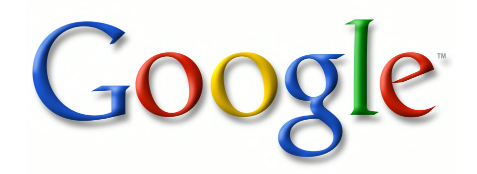
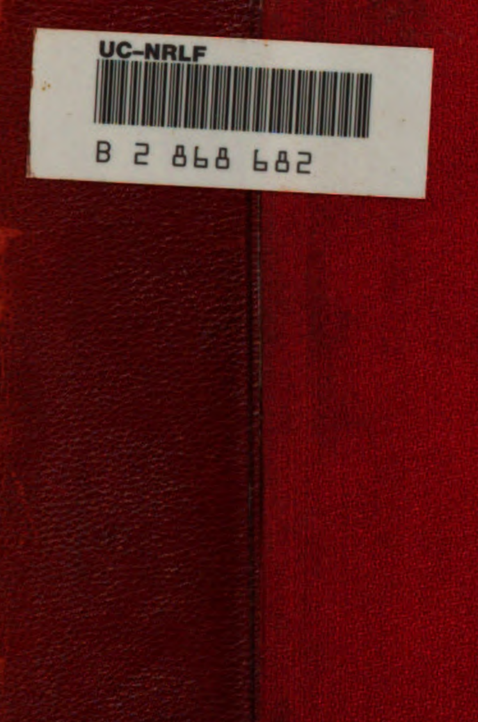
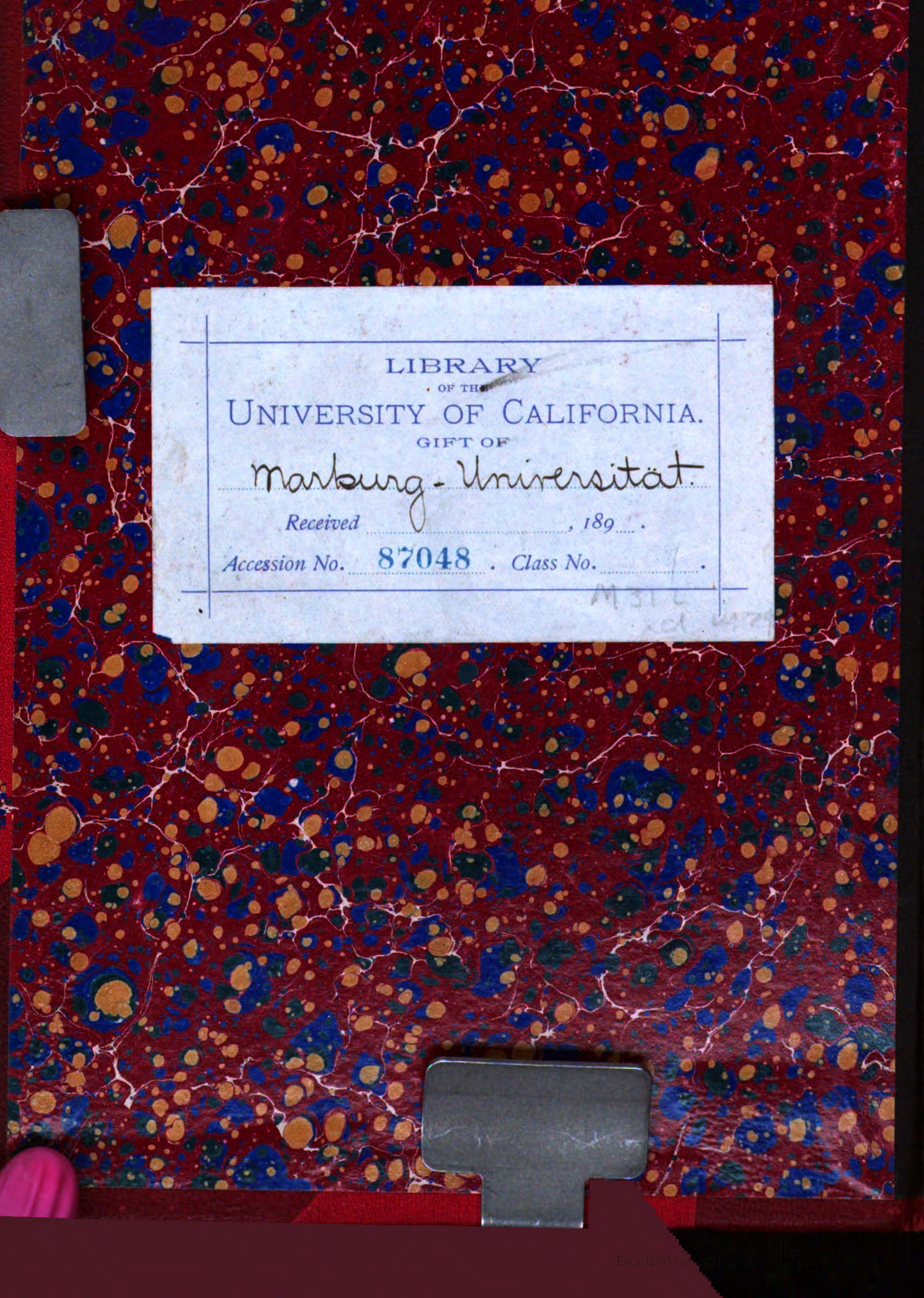
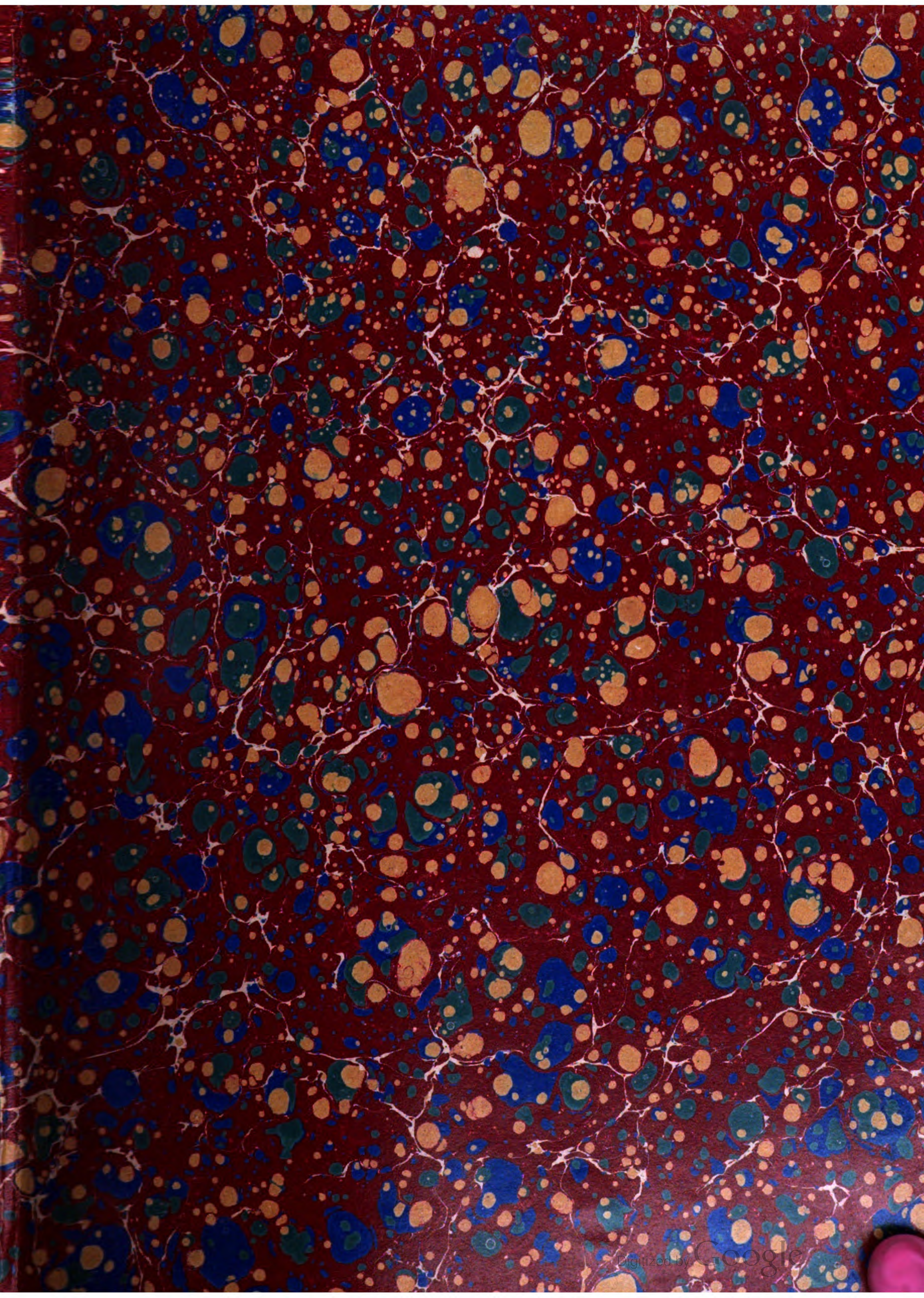








Beiträge
zur
Physiologie der Keimung von Zea Mais L.

INAUGURAL-DISSERTATION

VORGELEGT DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT MARBURG

BEHUFS

ERLANGUNG DER PHILOSOPHISCHEN DOCTORWÜRDE

VON

FERDINAND LINZ

AUS

IDSTEIN I./T.

Marburg 1896.

Von der Facultät als Dissertation angenommen
am 7. November 1895.

Seinen theuren Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

vom

Verfasser.

Das Interesse für den Keimungsprocess der Gramineen-Samen ist durch die interessante und im Gegensatz zu den bisherigen botanischen Arbeiten über diesen Gegenstand mit relativ guten Methoden durchgeführte Arbeit von Brown und Morris (Researches of the germination of some of the Gramineae; Journal of the Chemic. Society; Juni 1890) wieder wachgerufen worden. Herr Prof. Arthur Meyer veranlasste mich, Lücken und Zweifel, welche diese Arbeit übrig gelassen hatte, auszufüllen und zu heben. Vorzüglich galt es, zu untersuchen, ob die Ansicht Brown's richtig sei, dass das Endosperm der Gramineen todt sei.

Während Vorarbeiten für die Untersuchung gemacht wurden, erschien eine für unsere Frage wichtige Mittheilung von Pfeffer (Ueber die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen; Berichte der math.-phys. Klasse der Königl. Sächs. Gesellsch. der Wissensch. zu Leipzig; 3. Juli 1893), in der auch behauptet wurde, das Endosperm sei lebend, jedoch der Beweis für diese Behauptung nicht mit Sicherheit erbracht wurde. Zuletzt ist dann, während ich arbeitete, noch die ausführlichere, unter Pfeffer's Leitung gearbeitete Abhandlung von Hansteen (Barthold Hansteen, Ueber die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen; Flora, Ergänzungsband zum Jahrgange 1894, p. 418) erschienen, in der eine Thatsache angeführt wird, die es sehr wahrscheinlich macht, dass das Endosperm lebt.

Es konnten die von Pfeffer und Hansteen gemachten Erfahrungen bei meiner Arbeit zum Theil Verwendung finden. Hansteen stellte (ähnlich wie es Brown mit den Embryonen

machte) mit Gypsschildchen versehene Endosperme in 1 procentige Zuckerlösung und fand, dass die Endosperme dann die Stärkelösung einstellen. Eine derartige Sistirung ist wohl nur in lebenden Zellen möglich. Auch ich war auf ganz anderem Wege zu derselben Ueberzeugung gekommen und glaube weiter unten den Beweis für diese Auffassung erbringen zu können. Da sich zudem Pfeffer's Schüler nicht mit den Verhältnissen, welche die Diastase der Gramineen-Früchte zeigt, beschäftigt hat, und auch bei Brown und Morris noch viele Lücken in dieser Beziehung bleiben, so bringen meine Untersuchungen wohl eine wünschenswerthe Ergänzung dieser Arbeiten. Ich habe mich auf die Untersuchung eines Objectes, die Frucht von *Zea Mais*, beschränkt, um eine gründliche Durcharbeitung der Frage vornehmen zu können. Bei Mittheilung der Art der Anstellung und der Resultate der Versuche bin ich sorgfältig zu Werke gegangen, da bei diesen Untersuchungen kleine Fehlerquellen grosse Wirkung haben, und ohne ganz genaue Angabe des Verfahrens eine kritische Würdigung der Resultate nicht möglich ist.

Die bei den Keimungsversuchen nöthigen Vorsichtsmassregeln gegen das Eindringen von Bakterien hatte ich auf Veranlassung des Herrn Professor Arthur Meyer schon vor der Veröffentlichung der Abhandlung von Pfeffer und Hansteen in ähnlicher Weise getroffen, wie es derselbe beschreibt, nur hatte ich nicht unter einem schützenden Abzug gearbeitet. Obgleich meine Kulturen bakterienfrei geblieben waren, habe ich doch der grösseren Sicherheit wegen bei späteren Versuchen auch die Präparationen in einem extra dazu hergerichteten, aus Spiegelscheiben zusammengesetzten Glaskasten vorgenommen, der durch Spülen und Ausspritzen mit Sublimatlösung bakterienfrei gemacht werden konnte.

Die erste Aufgabe, die mir Herr Prof. Meyer stellte, war die Verbesserung der besten bisher bekannten Bestimmungsmethoden der Diastase.

Was die Brauchbarkeit der bisher bekannt gewordenen Methoden zur Bestimmung der Diastase anbelangt, so verweise ich auf die kurze kritische Besprechung, die Herr Prof. Meyer in seinem Werke „Untersuchungen über die Stärkekörner“ (Fischer 1895) p. 63 dieser Frage hat zu Theil werden lassen.

Er erklärt schliesslich die Methode von Kjeldahl für die beste. Bei der unter Leitung des Herrn Prof. Meyer ausgeführten Nachprüfung der Kjeldahl'schen Resultate gelangte ich zu dem Schlusse, dass die Proportionalität zwischen Diastaselösung und Kupfermenge schon viel früher erlischt, als es Kjeldahl angiebt. Für exacte Bestimmungen darf man die Reductionsfähigkeit der invertirten Stärkelösungen, (R)d, höchstens bis zu 10 steigen lassen. Freilich ist dabei zu beachten, dass es wahrscheinlich nicht gleichgültig sein wird, was für eine Stärkelösung man benutzt; denn alle die benutzten Lösungen sind in Folge der vorhergegangenen Behandlung der Stärke mit Diastase oder Säure nicht mehr einheitlich, sondern enthalten mehr oder weniger Amylodextrin, Dextrin etc. Es wird deshalb vielleicht das Verhältniss zwischen erreichtem Reductionsvermögen und dem Diastasegehalt einer mit Diastase behandelten „Stärkelösung" je nach der benutzten „Stärkelösung" verschieden ausfallen. Die Versuche in dieser Arbeit sind mit derselben Lintner'schen Stärke angestellt, die zur Aufstellung des am Ende dieses Abschnittes stehenden Tabelle Verwendung fand. Aus meinen Versuchen geht ferner hervor, dass die Resultate äusserst abhängig von der Temperatur sind, bei der das Ferment einwirkt.

Gegenüber den von mir gemachten Erfahrungen erscheinen sehr viele der von botanischer Seite mitgetheilten Messungen des diastatischen Vermögens bestimmter Pflanzentheile höchst ungenau und deren Resultate meist unbrauchbar. Ich will hier nur auf die Untersuchungen von Grüss hinweisen (Ueber das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze; Pringsheim's Jahrbücher 1894, p. 379). Grüss zieht die zerriebenen oder zerschnittenen, manchmal auch nur mit einem Glasstabe zerquetschten (p. 420) Pflanzentheile mindestens zwei Wochen (oft aber nur sieben Tage [p. 424]) mit concentrirtem oder auch mit verdünntem Glycerin aus, das nach ihm Maltose (?) und Gerbstoff schwer aus dem Gewebe lösen soll. Da Grüss aus Kartoffelscheiben in fünf Tagen keine Spur von Diastase ausziehen konnte (p. 389), so müssen derartig ungleich zerriebene oder zerschnittene Pflanzentheile wohl sehr verschieden schnell und wohl kaum jemals gleichmässig und vollkommen ihre Diastase abgeben. Dann stellt sich Grüss merkwürdiger Weise seine

Stärkelösung durch Kochen mit „einigen“ Tropfen Salzsäure her (p. 420). Salzsäure beeinflusst aber ungemein die Diastasewirkung und kann sie leicht völlig hemmen. Es scheint mir das Kochen mit „einigen“ Tropfen Salzsäure darnach eine höchst verhängnissvolle Methode zu sein. Grüss arbeitet auch anscheinend recht unbekümmert um die Temperatur, bei der die Einwirkung stattfindet.

Ueber die in dieser Arbeit zur quantitativen Bestimmung benutzte Methode.

Die quantitative Bestimmung der diastatischen Wirkung wurde im Allgemeinen nach Kjeldahl's Methode ausgeführt, die Stärkelösung aber wurde nach Lintner's Methode (Erdmann's Journal f. prakt. Chemie, Bd. 34, 1886) hergestellt. Zur Messung des Reductionsvermögens der in Betracht kommenden Flüssigkeiten benutzte ich Allihn's Methode. Das Nähere über die Art der Versuchsanstellung wird weiter unten mitgetheilt.

Die ersten derartigen Versuche wurden bei relativ niederer Temperatur angestellt, da es zweckmässig erschien zu versuchen, ob nicht die Diastasewirkung bei möglichst den natürlichen Verhältnissen entsprechender Temperatur gemessen werden könne. Die Erwärmung fand in einem Wasserbade statt, das durch einen Thermoregulator nach Reichert möglichst constant auf 30° C. erhalten wurde, aber mit keiner Rührvorrichtung versehen war.

Es wurde zu den Versuchen benutzt eine 2procentige Stärkelösung und ein Diastaseauszug im Verhältniss 1 : 50.

Versuche bei 30° C. und 24 Stunden digerirt:

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 1 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 13 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 4 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 54 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 5 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 76 „ „

Obige Versuche wiederholt mit derselben Diastase und frisch bereiteter Stärkelösung gaben:

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 1 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 10 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 2 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 17 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 4 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 32 „ „

Die Versuche wurden bei 30° C. und 48stündigem Digeriren wiederholt mit frisch bereiteten Lösungen von Diastase und Stärke in obigem Verhältniss:

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 1 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 13 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 4 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 53 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 5 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 74 „ „

Die bisherigen Versuche stimmten mit dem Kjeldahl'schen Proportionalitätsgesetz nicht genau überein; es wurden deshalb zunächst Versuche gemacht, die prüfen sollten, ob sich bei höherer Temperatur eine grössere Constanz und eine bessere Proportionalität der Resultate erzielen lasse. Unter sonst gleichen Verhältnissen wurden bei 40° C. Versuche angestellt. Die Resultate derselben waren die folgenden:

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 1 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 24 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 3 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 73 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 5 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 133 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 7 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 155 „ „

Versuche mit derselben Diastase, einige Tage später angestellt, unter sonst gleichen Verhältnissen gaben folgendes Resultat:

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 2 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . . = 56 mg Cu,

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 4 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 121 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 6 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 149 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 8 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 164 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 10 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 170 „ „

Bisher wurde gefunden, dass bei allen Temperaturen Unregelmässigkeiten in den Resultaten auftraten, dass dieselben bei kleineren Fermentmengen, also grösserem Stärkevorrath, bei höherer Temperatur relativ geringer wurden, dass aber bei grösseren Fermentmengen das Proportionalitätsgesetz keine Geltung mehr hatte. Die Unregelmässigkeiten, die bei den angestellten Versuchen beobachtet wurden, schienen darnach ihren hauptsächlichsten Ursprung in den Schwankungen der Temperatur zu haben, welche bei dem schlechten Regulator und dem Mangel einer Rührvorrichtung eintreten mussten, und wahrscheinlich auch in der Ungleichmässigkeit der Erwärmung der Diastase vor Eintritt der Tödtungstemperatur.

Zur Erwärmung wurde nun der von Pfeffer beschriebene Thermostat benutzt. Die hierbei erhaltenen Resultate gestalteten sich so constanter. Zur Anwendung kam dabei folgende hier genauer zu beschreibende Methode.

Die Diastase wurde im Allgemeinen in folgender Weise hergestellt:

10 g fein gepulvertes Luftmalz wurden mit 1 l Wasser unter Zusatz von 2 ccm Chloroform sechs Stunden bei 15° C. maceriren lassen. Darauf wurde die Flüssigkeit filtrirt und nun in gut verschlossenen Gefässen unter Zusatz von noch etwas Chloroform im Dunkeln aufbewahrt. Mit ein und derselben Diastaselösung wurden jedes Mal eine Reihe von Versuchen angestellt.

Die Stärkelösung wurde folgendermassen bereitet:

Von einer nach Lintner's Verfahren hergestellten Stärke wurde eine 2procentige Lösung gemacht, indem die betreffende Stärkemenge fünf Minuten mit etwa 10 ccm kaltem Wasser angerührt, darauf 90 ccm kochendes Wasser zugegeben und das

Ganze zwei Minuten im vollen Kochen gelassen wurde. Nach dem Erkalten wurde die Stärkelösung filtrirt, und zu den Versuchen jedes Mal genau 100 ccm resp. 50 ccm abgemessen. Da ein längeres Aufbewahren der Stärkelösung nicht von Vortheil ist, so wurde zu allen Versuchen dieselbe genau nach obigem Verhältniss frisch bereitet.

Die Temperatur wurde durch den Thermostaten bis auf mindestens 0,5° C. genau inne gehalten und dauerte die Erwärmung jedes Mal 24 Stunden.

Zunächst wurden Versuche bei 60° C. angestellt und ergaben folgende Resultate:

Versuche bei 60° C.

100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 1 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 10 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 2 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 22 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 4 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 44 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 5 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 60 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 7 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 68 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 8 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 78 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 10 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 79 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 12 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 79 „ „
100 ccm Stärkelösung (2 procentige) nach Lintner
+ 14 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 98 „ „

Die hierbei auftretenden Schwankungen liessen sich nur noch dadurch erklären, dass die Temperatur von 60° C. zu hoch war, d. h. der Temperatur, bei der ein plötzliches Abfallen der Diastasewirkung eintritt (62—63° C.), zu nahe lag. Bei den folgenden Versuchen wurde anstatt bei 60° C. bei nur 55° C. gearbeitet, weil hierbei weniger Gefahr war, die Proben zu hoch zu

erhitzen. Einer der Versuche, bei 55° C. angestellt, ergab folgendes Resultat:

100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 1 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 12 mg Cu,
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 2 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 25 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 3 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 35 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 4 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 46 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 5 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 54 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 8 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 74 „ „
100 ccm Stärkelösung (2procentige) nach Lintner
+ 10 ccm Diastase, davon 25 ccm . . . . . = 77 „ „

Die Versuchsresultate stimmen mit den Kjeldahl'schen Angaben insofern nicht, als die ungefähre Proportionalität zwischen Diastase und Kupfermenge schon aufhört, wenn erst 10 % Dextrose entstanden sind. Nach Kjeldahl soll die Proportionalität bis zu 30 % Zucker erhalten bleiben. Im Allgemeinen entsprach das Verhältniss zwischen Cu und Diastase unter den angewandten Versuchsbedingungen (55° C., 2procentige Stärkelösung etc.) folgenden Zahlen der Tabelle.

Tabelle über die Beziehung zwischen Kupfermenge und Diastase.

12 mg	Cu	= 1	Diastase,		22 mg	Cu	= 1,7	Diastase,
13 „	„	= 1,1	„		23 „	„	= 1,8	„
14 „	„	= 1,1	„		24 „	„	= 1,9	„
15 „	„	= 1,2	„		25 „	„	= 2	„
16 „	„	= 1,3	„		26 „	„	= 2,1	„
17 „	„	= 1,4	„		27 „	„	= 2,2	„
18 „	„	= 1,4	„		28 „	„	= 2,3	„
19 „	„	= 1,5	„		29 „	„	= 2,4	„
20 „	„	= 1,6	„		30 „	„	= 2,5	„
21 „	„	= 1,7	„.		31 „	„	= 2,6	„

32 mg	Cu	= 2,7	Diastase,		62 mg	Cu	=	6,1	Diastase,
33 „	„	= 2,8	„		63 „	„	=	6,3	„
34 „	„	= 2,9	„		64 „	„	=	6,5	„
35 „	„	= 3	„		65 „	„	=	6,7	„
36 „	„	= 3,1	„		66 „	„	=	6,9	„
37 „	„	= 3,2	„		67 „	„	=	7,2	„
38 „	„	= 3,3	„		68 „	„	=	7,4	„
39 „	„	= 3,5	„		69 „	„	=	7,6	„
40 „	„	= 3,6	„		70 „	„	=	7,8	„
41 „	„	= 3,7	„		71 „	„	=	8	„
42 „	„	= 3,8	„		72 „	„	=	8,3	„
43 „	„	= 3,9	„		73 „	„	=	8,6	„
44 „	„	= 4	„		74 „	„	=	8,9	„
45 „	„	= 4,1	„		75 „	„	=	9,2	„
46 „	„	= 4,2	„		76 „	„	=	9,5	„
47 „	„	= 4,3	„		77 „	„	=	9,8	„
48 „	„	= 4,5	„		78 „	„	=	10,1	„
49 „	„	= 4,6	„		79 „	„	=	10,4	„
50 „	„	= 4,7	„		80 „	„	=	10,7	„
51 „	„	= 4,8	„		81 „	„	=	11	„
52 „	„	= 4,9	„		82 „	„	=	11,3	„
53 „	„	= 5	„		83 „	„	=	11,7	„
54 „	„	= 5,1	„		84 „	„	=	12,1	„
55 „	„	= 5,2	„		85 „	„	=	12,5	„
56 „	„	= 5,3	„		86 „	„	=	13	„
57 „	„	= 5,5	„		87 „	„	=	13,6	„
58 „	„	= 5,6	„		88 „	„	=	14,1	„
59 „	„	= 5,7	„		89 „	„	=	14,8	„
60 „	„	= 5,9	„		90 „	„	=	16	„
61 „	„	= 6	„		91 „	„	=	17	„

Die Abweichungen bei diesen Versuchen betrugen ± 2 mg Cu. Es können alle diesen Differenzen entsprechende kleine Schwankungen nicht mehr mit Sicherheit gemessen werden. Werden z. B. 1,5 Diastase gefunden, so kann das Resultat sowohl noch 1,4 als 1,7 entsprechen. Werden 12,1 Diastase gefunden, so könnte das Resultat in Wahrheit noch 11,3 und 13,0 sein.

Um zu sehen, ob nicht die Tödtung zweckmässiger durch Kalilauge geschehen könne, wurden folgende Versuche ausgeführt.

Zu einer 2procentigen Lintner'schen Stärkelösung wurde 5% Kalilauge in verschiedener Menge zugegeben. Die Flüssigkeit wurde gut durchgeschüttelt, darauf die bestimmte Diastasemenge zugegeben und dann das Ganze einer 24stündigen Digeration bei 55° C. ausgesetzt. Anderentheils wurde eine gleiche Menge Lintner'scher Stärkelösung mit Zusatz einer gleichen Diastasemenge, wie oben, 24 Stunden digerirt und dann sofort 1, resp. 2 ccm Kalilauge zugesetzt. Und drittens wurde eine gleiche Menge Stärkelösung mit einer gleichen Diastasemenge, wie oben, 24 Stunden digerirt, jetzt aber statt sie mit Kalilauge zu versetzen, schnell aufgekocht.

I. Versuchsreihe.

1. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 ccm KOH, dieselbe vor dem 24stündigen Digeriren zugesetzt, + 10 ccm Diastase, das Ganze dann 24 Stunden digerirt,
   25 ccm davon gaben = 11 mg Cu.
2. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 10 ccm Diastase, 24 Stunden digerirt und dann 1 ccm KOH zugesetzt,
   25 ccm davon gaben = 175 mg Cu.
3. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 10 ccm Diastase, 24 Stunden digerirt und dann das Ganze schnell aufgekocht,
   25 ccm davon gaben = 149 mg Cu.
4. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 2 ccm KOH, dieselbe vor dem 24stündigen Digeriren zugesetzt + 10 ccm Diastase, das Ganze dann 24 Stunden digerirt,
   25 ccm davon gaben = 32 mg Cu.

II. Versuchsreihe.

1. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 ccm KOH, dieselbe vor dem 24stündigen Digeriren zugesetzt, + 10 ccm Diastase, das Ganze dann 24 Stunden digerirt,
   25 ccm davon gaben = 13 mg Cu.
2. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 10 ccm Diastase, 24 Stunden digerirt und dann 1 ccm KOH zugesetzt,
   25 ccm davon gaben = 149 mg Cu.

3. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 10 ccm Diastase, 24 Stunden digerirt und dann das Ganze schnell aufgekocht,
   25 ccm davon gaben = 136 mg Cu.
4. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 2 ccm KOH, dieselbe vor dem 24stündigen Digeriren zugesetzt, + 10 ccm Diastase, das Ganze 24 Stunden digerirt,
   25 ccm davon gaben = 28 mg Cu.

Wenngleich diese Versuchsreihen als abgeschlossen keineswegs zu betrachten sind, so deuten doch die erhaltenen Resultate darauf hin, dass durch Kalilauge die Diastasewirkung sofort geschwächt, aber keineswegs sofort völlig sistirt wird. Bemerkenswerth bei obigen Versuchsreihen ist die Thatsache, dass die erhaltene Kupfermenge auf Zusatz von 2 ccm KOH nach 24-stündigem Digeriren eine grössere ist, als die mit Zusatz von 1 ccm KOH. Andererseits ist aber auffallend, dass nach 24stündigem Digeriren und darauf erfolgtem Zusatze von 1 ccm KOH die erhaltene Kupfermenge grösser ist, als die des Versuchs mit nachherigem Aufkochen. Nach letzteren Resultaten wäre anzunehmen, dass der Zusatz von Kalilauge nach 24stündigem Digeriren noch ein rapides Steigen der Diastasewirkung hervorruft und dann erst die Diastase tödtet.

Da die durch Aufkochen nach 24stündigem Digeriren erhaltenen Resultate bei weitem übereinstimmender lauteten, so wurde die Tödtung bei den weiteren Versuchen wieder durch Kochen herbeigeführt.

Um zu entscheiden, ob Chloroform von wesentlichem Einfluss auf die Wirksamkeit der Diastase sei, wurden einige Versuche angestellt.

1. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase + 15 ccm destillirtes Wasser, das Ganze 24 Stunden digerirt und dann sofort aufgekocht,
   25 ccm davon gaben = 135 mg Cu.
2. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase + 5 ccm Chloroform + 10 ccm destillirtes Wasser, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,
   25 ccm davon gaben = 138 mg Cu.



3. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 6 ccm Diastase + 14 ccm destillirtes Wasser, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht, 25 ccm davon gaben = 146 mg Cu.

4. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 6 ccm Diastase + 5 ccm Chloroform + 9 ccm destillirtes Wasser, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,
25 ccm davon gaben = 144 mg Cu.

Es stellte sich also heraus, dass der Chloroformzusatz keine wesentliche Aenderung des Resultates erzeugte.

Einfluss des Lichtes.

Da gewöhnlich mit der diastasehaltigen Lösung bei Licht operirt wird, wurde auch untersucht, welchen Einfluss das Licht auf die Diastase hat.

Zu dem Zwecke bereitete ich mir zunächst eine grössere Menge Diastaselösung im Verhältniss 1 : 100 und theilte dieselbe in vier gleiche Portionen mit Zusatz von einigen Tropfen Chloroform. Die erste Portion (No. I) liess ich sofort auf 2procentige Stärkelösung 24 Stunden einwirken. No. II bewahrte ich mehrere Wochen in einem dunklen Raume auf und nahm von Zeit zu Zeit eine aequivalente Menge, die ich dann wieder auf 2procentige Stärkelösung 24 Stunden einwirken liess. No. III bewahrte ich bei mittlerer Zimmerbeleuchtung auf, und No. IV stellte ich an ein Fenster, so dass die Diastase zeitweise direct von der Sonne beleuchtet wurde.

I. Versuchsreihe.

No. I. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 5 ccm frischer Diastase, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,
25 ccm davon gaben = 126 mg Cu.

No. II. 100 ccm Stärkelösung (2procentige) + 5 ccm Diastase, die drei Wochen gestanden, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,
25 ccm davon gaben = 68 mg Cu.



No. III. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase, die drei Wochen gestanden, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,

25 ccm davon gaben = 61 mg Cu.

No. IV. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase, die drei Wochen gestanden, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,

25 ccm davon gaben = 53 mg Cu.

II. Versuchsreihe.

No. II. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase, die sechs Wochen gestanden, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,

25 ccm davon gaben = 31 mg Cu.

No. III. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase, die sechs Wochen gestanden, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,

25 ccm davon gaben = 27 mg Cu.

No. IV. 100 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 5 ccm Diastase, die sechs Wochen gestanden, 24 Stunden digerirt und dann aufgekocht,

25 ccm davon gaben = 6 mg Cu.

Nach diesen Versuchen lässt sich annehmen, dass die Diastasewirkung durch zerstreutes Licht nur wenig, hingegen durch grelles Tageslicht erheblich herabgesetzt wird, dass aber die Diastaselösungen auch beim Stehen im Dunkeln an Wirksamkeit abnehmen. In einem Tage würde also die Wirksamkeit einer Diastaselösung von der Wirkung 100 im Dunkeln ungefähr um 1,6, im Sonnenlicht um 2,5 sinken. Es ist also auf dieses Resultat Rücksicht zu nehmen. —

Den hauptsächlichsten Gesichtspunkten des Problems entsprechend, hat Herr Prof. Meyer eine Reihe von Fragen gestellt, deren Beantwortung ich in dem folgenden gebe. Ich knüpfe an die Resultate zugleich die wichtigsten Schlüsse und setze dieselben mit dem bisher bekannt gewordenen in Verbindung. Selbstverständlich wurde zu allen Versuchen die gleiche Maissorte

verwendet und da, wo es nöthig schien, noch gleichartige Früchte ausgelesen. Die Bestimmung des Diastasegehaltes der verschiedenen Theile des Samens u. s. w. wurde in der früher angegebenen Weise bei 55° C. und einer Digerationsdauer von 24 Stunden ausgeführt. Die zu prüfende Substanz wurde vor dem Digeriren stets zu 50 ccm 2procentiger Lösung von Lintner's Stärke gesetzt, nach dem Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt. Von dieser Flüssigkeit wurden dann stets 25 ccm zur Zuckerbestimmung benutzt. Die erhaltene Kupfermenge musste dabei innerhalb der Grenzen von 1 bis 90 mg Cu bleiben, und wurde aus der Kupfermenge dann die Diastasemenge nach der „Tabelle über die Beziehung zwischen Kupfermenge und Diastase" berechnet.

Frage I:

Wie verhält sich der Diastasegehalt des Embryo und des Schildchens zu dem Diastasegehalt des Endosperms des ruhenden Samens, der zwei Tage in Wasser gelegen hatte?

Maisfrüchte wurden zwei Tage quellen lassen, dann wurden die Embryonen vom Endosperme befreit, das Schildchen vom übrigen Embryo getrennt und die drei Theile einzeln in frischem Zustande gewogen. Hierauf wurden sie in der Weise getödtet, dass sie einen Tag unter einer Glasglocke, die von Chloroformdampf angefüllt war, gelegt wurden. Schliesslich wurden sie bei gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure sechs Tage getrocknet, zerrieben und darauf nochmals drei Tage über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Zugleich wurde das absolute Trockengewicht bestimmt, indem eine abgewogene gut zerriebene Menge von obigen drei Portionen ½ Stunde im Trockenschrank auf 105° C. erhitzt, nach dem Erkalten gewogen, nochmals auf 105° C. erhitzt und wieder gewogen wurde bis zum constanten Gewichte.

Absolutes Trockengewicht bei 105° C.

1. 0,103 g Embryonen = 0,096 g Embryonen,
2. 1,006 g Schildchen = 0,937 g Schildchen,
3. 1,005 g Endosperm = 0,942 g Endosperm.

Versuch 1.

50 Embryonen ohne Schildchen wogen in frischem Zustande . . . . 0,873 g,
dieselben über Schwefelsäure getrocknet wogen . 0,215 „
dieselben bei 105° C. getrocknet wogen . . . 0,2 „

50 Schildchen wogen in frischem Zustande . . . 4,215 g,
dieselben über Schwefelsäure getrocknet wogen . 1,602 „
dieselben bei 105° C. getrocknet wogen . . . . 1,45 „

50 Endosperme wogen in frischem Zustande . . . 26,531 g,
dieselben über Schwefelsäure getrocknet wogen . 16,150 „
dieselben bei 105° C. getrocknet wogen . . . . 15,1 „

1a) 0,05 getrocknete Embryonen vor dem Digeriren mit 10 ccm Wasser aufgekocht, zu 50 ccm Stärkelösung gesetzt, nach dem Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon gaben = 14 mg Cu.

1b) 0,05 getrocknete Embryonen + 50 ccm Stärkelösung, 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon gaben = 17 mg Cu
obige 14 mg hiervon abgezogen 14 mg Cu
25 ccm = 3 mg Cu = 0,3 Diastase.

2a) 0,1 getrocknete Schildchen vor dem Digeriren mit 10 ccm Wasser aufgekocht, dann mit 50 ccm Stärkelösung digerirt, darauf aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon gaben = 17 mg Cu.

2b) 0,1 getrocknete Schildchen + 50 ccm Stärkelösung 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon gaben = 54 mg Cu
obige 17 mg hiervon abgezogen 17 mg Cu
25 ccm = 37 mg Cu = 3,2 Diastase.

3a) 1 g getrocknetes Endosperm mit 10 ccm Wasser aufgekocht, darauf mit 50 ccm Stärkelösung digerirt, aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm davon gaben = 29 mg Cu.

3b) 1 g getrocknetes Endosperm mit 50 ccm Stärkelösung digerirt, aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon gaben = 58 mg Cu,
obige 29 mg hiervon abgezogen 29 „ „
25 ccm = 29 mg Cu = 2,4 Diastase.

Getrocknet neun Tage über Schwefelsäure.

1 g getrockneter Embryo ohne Schildchen . .	= 0,24 g Cu	= 24	Diastase,
1 „ getrocknete Schildchen .	= 1,48 „ „	= 128	„
1 „ getrocknetes Endosperm	= 0,116 „ „	= 9,6	„
1 „ ganzer Embryo . . .	= 1,33 „ „	= 115,6	„

Bei 105° getrocknet.

1 g getrockneter Embryo ohne Schildchen . .	= 0,26 g Cu	= 26	Diastase,
1 „ getrocknete Schildchen .	= 1,55 „ „	= 134	„
1 „ getrocknetes Endosperm .	= 0,123 „ „	= 10,1	„

Im frischen Zustande.

1 g Embryo ohne Schildchen	= 0,059 g Cu	= 5,9	Diastase,
1 „ Schildchen	= 0,562 „ „	= 48,6	„
1 „ Endosperm	= 0,071 „ „	= 5,8	„
1 „ ganzer Embryo . . .	= 0,474 „ „	= 41,2	„

Versuch 2.

Zum Vergleiche können die Resultate des folgenden, sich nur auf schildchenfreien Embryo und Endosperm beziehenden Versuches benutzt werden, bei welchem das Einquellen nicht unter ganz den gleichen Temperaturverhältnissen, jedoch auch genau zwei Tage durchgeführt worden war.

100 Embryonen ohne Schildchen wogen in frischem Zustande . . . . 1,115 g,
dieselben über Schwefelsäure getrocknet . . . 0,331 „

100 Endosperme wogen in frischem Zustande . . . 41,25 g,
dieselben über Schwefelsäure getrocknet . . . 33,92 „

1a) 0,16 g getrocknete Embryonen ohne Schildchen wurden vor dem Digeriren mit 10 ccm Wasser aufgekocht, zu 50 ccm Stärkelösung gesetzt und die Versuchsflüssigkeit nach dem Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon gaben = 12 mg Cu,

25 ccm der reinen Stärkelösung ergab ebenfalls 12 mg Cu, so dass die Embryonen zuckerfrei waren.

1b) 0,16 g getrocknete Embryonen ohne Schildchen + 50 ccm Stärkelösung digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon gaben = 28 mg Cu,
obige 12 mg abgezogen = 12 mg „

demnach 25 ccm = 16 mg Cu = 1,3 Diastase.

2a) 50 ccm Stärkelösung + 1 g getrocknetes Endosperm, letzteres vor dem Digeriren mit 10 ccm Wasser aufgekocht, das Ganze nach 24stündigem Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm davon gaben = 21 mg Cu.

2b) 50 ccm Stärkelösung + 1 g getrocknetes Endosperm digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon gaben = 60 mg Cu,
obige 21 mg Cu abgezogen = 21 mg „

25 ccm = 39 mg Cu = 3,5 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g getrockneter Embryo ohne Schildchen	= 0,385 g Cu	= 31	Diastase;
1 „ frischer Embryo ohne Schildchen	= 0,114 „ „	= 9,2	„
1 „ getrocknetes Endosperm	= 0,156 „ „	= 14	„
1 „ frisches Endosperm	= 0,125 „ „	= 11,2	„

Die Trocknung der Organe bei 105° C. hat keine besondere Bedeutung für die Resultate. Es genügt, wenn alle Organe zehn Tage bei gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure getrocknet werden. Es wurden deshalb in der Folge, wenn nichts anderes angegeben ist, die Organe nur zehn Tage über Schwefelsäure getrocknet, dann pulverisirt und nochmals einen Tag über Schwefelsäure getrocknet.

Es geht im Allgemeinen aus den bisherigen Resultaten hervor, dass der Diastasereichthum des lebenden Schildchens im Ruhezustande ungefähr neunmal so gross ist als der des Endosperms. Bei eintretender Quellung könnte also sofort der Embryo durch Abgabe der Diastase Stärke in den angrenzenden Zellen in Lösung bringen, ehe das Endosperm selbst kräftig in Action ist. Der vom Schildchen befreite Embryo enthält fast ebenso viel Diastase als das Endosperm.

Das Endosperm ist noch relativ arm an Diastase, enthielt im Mittel 8,5 Diastase.

Der relative Reichthum des Schildchens an Diastase kommt auch in dem folgenden, wenig exacten Resultate eines Versuches von Grüss zum Ausdrucke (Grüss I, p. 287):

Samen vier bis fünf Tage eingequellt, Theile getrocknet.
Endosperm 13,12 g, Spuren von Zucker
Aleuronschicht 2,47 g, Spuren von Zucker
Schildchen 2,64 g, beträchtliche Mengen von Zucker.

Vielleicht ist es nicht unzweckmässig, wenn ich hier die Zahlen einfüge, die Brown und Morris (I, p. 507) für unreife und reife Gerstenfrüchte fanden. Sie zeigen, dass die unreifen Gerstenfrüchte schon Diastase enthalten, dass der Gehalt beim Reifen zunimmt, in den reifen Früchten stark sinkt und bei der Keimung ziemlich erheblich wächst. Es entspricht dieses Verhalten der Thatsache, dass die wachsenden Endosperme Diastase zur periodischen Lösung der Stärkekörner brauchen, und dass bei der Reife die Stärkelösung sistirt wird.

100 Früchte	mit halb	entwickeltem Endosperm	8,8 g	CuO,
„ „	„ zweidrittel	„ „	15,7 „	„
„ „	„ völlig	„ „	19,3 „	„
„ „	im ausgereiften Zustande		5,0 „	„
„ „	sieben Tage nach Beginn der Keimung		27,4 „	„

Dass während der Keimung der Diastasegehalt der Gerste langsam zunimmt, geht aus Kjeldahl's (I, p. 138) Versuchen hervor, die ich in der Weise umrechnete, dass ich den Fermentgehalt des sieben Tage in Keimung begriffenen Gersten-Samens = 27,4 setzte, um die Resultate mit denen von Brown und Morris in Einklang zu bringen.

1. Tag 8,7 — 2. Tag 9,1 — 3. Tag 9,96 — 4. Tag 13,7 — 5. Tag 18,7 — 6. Tag 23,6 — 7. Tag 27,4. —

Die nächsten Versuche sollen vorzüglich prüfen, wie sich die verschiedenen Theile der Frucht, bezüglich der Steigerung des Diastasegehaltes bei der Keimung, verhalten.

Frage II:

Wie verhalten sich dieselben Organtheile nach fünf- und zehntägiger Keimung, von dem Tage an gerechnet, wo der Keim eben heraustritt?

Maisfrüchte wurden wiederum zwei Tage quellen gelassen, sodann mit Sublimatwasser (1 : 1000) sorgfältigst abgespült und mit sterilisirtem Wasser vollkommen vom Sublimate befreit. Die sterilisirten Früchte wurden sofort auf sterile Gaze gelegt, die gerade noch in ein Gefäss Wasser hineintauchte, welches durch dreimaliges halbstündiges Aufkochen in Intervallen von je einem Tag sterilisirt worden war. Das Ganze stand unter einer Glasglocke, auf einem mit Sublimatwasser gefüllten Porzellanteller, in einem Zimmer, dessen Tages- und Nachttemperatur ständig 12—20° C. betrug, und wurde so fünf, resp. zehn Tage im Dunkeln stehen gelassen.

Versuch 3.

Die Grössenverhältnisse nach fünftägiger Keimung waren folgende:

Länge der grössten Wurzel . .	9,6 cm,
im Durchschnitt	7,1 „
kleinste Wurzel	5 „
Länge des grössten Blattorganes	6,6 „
im Durchschnitt	4,7 „
kleinstes Blattorgan	2,5 „

1. 20 Endosperme in frischem Zustande wogen . . . 9,03 g,
   dieselben getrocknet . . . . 5,788 „
2. Epithele von 20 Schildchen in frischem Zustande wogen 0,13 g,
   dieselben getrocknet . . . . 0,102 „
3. 20 Schildchen ohne Epithel in frischem Zustande . 1,32 g,
   dieselben getrocknet . . . . 0,577 „

4. Die Blattorgane von 20 Embryonen wogen in frischem Zustande . . . . 3,95 g,
dieselben getrocknet . . . . 0,452 „

5. Die Wurzeln von 20 Embryonen wogen in frischem Zustande . . . . 1,92 g,
dieselben getrocknet . . . . 0,218 „

1. 0,02 g getrockn. Endosperm nach dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 ccm = 38 mg Cu,
0,02 g getrockn. Endosperm vor dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 „ = 10 „ „
25 ccm = 28 mg Cu = 2,3 Diastase,
also 0,02 g getrocknetes Endosperm = 112 mg Cu = 9,2 Diastase.

2. 0,01 g getrocknetes Epithel nach dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 ccm = 64 mg Cu,
0,01 g getrocknetes Epithel vor dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 „ = 12 „ „
25 ccm = 52 mg Cu = 4,9 Diastase,
also 0,01 g getrocknetes Epithel = 208 mg Cu = 19,6 Diastase.

3. 0,02 g getrocknetes Schildchen ohne Epithel nach dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 ccm = 103 mg Cu,
0,02 g getrocknetes Schildchen ohne Epithel vor dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 „ = 24 „ „
25 ccm = 79 mg Cu = 10,4 Diastase,
also 0,02 g getrockn. Schildchen ohne Epithel = 316 mg Cu = 41,6 Diastase.

4. 0,05 g getrockn. Blattorgan nach dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 ccm = 48 mg Cu,
0,05 g getrockn. Blattorgan vor dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 „ = 10 „ „
25 ccm = 38 mg Cu = 3,3 Diastase,
also 0,05 g getrocknetes Blattorgan = 152 mg Cu = 13,2 Diastase.

5. 0,05 g getrocknete Wurzel nach dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 ccm = 52 mg Cu,
0,05 g getrocknete Wurzel vor dem 24 stündigen Digeriren aufgekocht, 25 „ = 10 „ „
25 ccm = 42 mg Cu = 3,8 Diastase,
also 0,05 g getrocknete Wurzel = 168 mg Cu = 15,2 Diastase.



Darnach lieferten:

1. 1 g getrocknetes Endosperm	= 5,6	g Cu	= 460	Diastase,
2. 1 „ getrocknetes Epithel .	= 20,8	„ „	= 1960	„
3. 1 „ getrocknete Schildchen ohne Epithel . . .	= 15,8	„ „	= 2080	„
4. 1 „ getrocknetes Blattorgan	= 3,04	„ „	= 264	„
5. 1 „ getrocknete Wurzel . .	= 3,36	„ „	= 304	„
6. 1 „ ganzer getrockneter Embryo	= 9,89	„ „	= 1175,3	„

1. 1 g frisches Endosperm . .	= 3,5	g Cu	= 287	Diastase,
2. 1 „ frisches Epithel . . .	= 16,3	„ „	= 1536	„
3. 1 „ frisches Schildchen ohne Epithel	= 6,9	„ „	= 908	„
4. 1 „ frisches Blattorgan . .	= 0,168	„ „	= 30,2	„
5. 1 „ frische Wurzel . . .	= 0,381	„ „	= 34,5	„
6. 1 „ frischer ganzer Embryo	= 1,822	„ „	= 298	„
7. 1 „ frischer Embryo ohne Schildchen . .			= 31,5	„
8. 1 „ frisches Schildchen			= 965	„
9. 1 „ ganze, gekeimte Frucht			= 283	„

Versuch 3a.

Derselbe Versuch wurde wiederholt, jedoch ging dabei das Schildchen verloren, so dass nur die anderen Theile des Samens zum Vergleich herangezogen werden konnten.

Die Grössenverhältnisse nach fünftägiger Keimung waren folgende:

Länge der grössten Wurzel . .	8,5 cm,
im Durchschnitt	6,2 „
kleinste Wurzel	4,8 „
Länge des grössten Blattorganes	9,1 cm,
im Durchschnitt	6,3 „
kleinstes Blattorgan	5,1 „

15 Endosperme wogen in frischem Zustande . .	6,55 g,
dieselben getrocknet	3,87 „
Die Blattorgane von 15 Embryonen wogen frisch	4,86 g,
dieselben getrocknet	0,752 „

Die Wurzeln von 18 Embryonen wogen frisch . 1,46 g,
dieselben getrocknet . . . . 0,26 „

0,05 g getrockn. Endosperm nach dem Digeriren aufgekocht,	25 ccm = 106 mg Cu,	
0,05 g getrockn. Endosperm vor dem Digeriren aufgekocht,	25 „ = 20 „ „	
	25 ccm = 86 mg Cu	= 13,0 Diastase,

also 0,05 g getrocknetes Endosperm = 344 mg Cu = 52,0 Diastase.

0,05 g getrocknete Plumula nach dem Digeriren aufgekocht,	25 ccm = 86 mg Cu,	
0,05 g getrocknete Plumula vor dem Digeriren aufgekocht,	25 „ = 25 „ „	
	25 ccm = 61 mg Cu	= 6,0 Diastase,

also 0,05 g getrocknete Plumula = 244 mg Cu = 24,0 Diastase.

0,05 g getrocknete Wurzel nach dem Digeriren aufgekocht,	25 ccm = 42 mg Cu,	
0,05 g getrocknete Wurzel vor dem Digeriren aufgekocht,	25 „ = 24 „ „	
	25 ccm = 18 mg Cu	= 1,4 Diastase,

also 0,05 g getrocknete Wurzel = 072 mg Cu = 5,6 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g getrocknetes Endosperm	= 6,88 g Cu	= 1040	Diastase,
1 „ getrocknete Plumula .	= 4,88 „ „	= 480	„
1 „ getrocknete Wurzel . .	= 1,44 „ „	= 112	„
1 „ trockener Embryo ohne Schildchen	= 3,99 „ „	= 384,0	„
1 g frisches Endosperm . .	= 4,06 „ „	= 614	„
1 „ frische Plumula . . .	= 0,755 „ „	= 74,2	„
1 „ frische Wurzel . . .	= 0,332 „ „	= 20	„
1 „ Embryo ohne Schildchen	= 0,638 „ „	= 61,6	„

Das kurz ausgedrückte Resultat der beiden Versuche ist das folgende:

Versuch 3.

Frische Organe.

1 g ganze Frucht	= 283	Diastase,
1 „ Endosperm	= 287	„
1 „ Embryo	= 298	„

1 g	Schildchen	= 965	Diastase,
1 „	Embryo ohne Schildchen . .	= 31,5	„
1 „	Epithel	= 1536	„
1 „	Schildchen ohne Epithel . . .	= 908	„
1 „	Blätter und Kotyledonarscheide	= 30,2	„
1 „	Wurzel	= 34,5	„

Versuch 3a.

Frische Organe.

1 g	Endosperm	= 614	Diastase,
1 „	Embryo ohne Schildchen . .	= 61,6	„
1 „	Blätter und Kotyledonarscheide	= 74,2	„
1 „	Wurzel	= 20	„

Vergleicht man zuerst die Resultate von 3 und 3a miteinander, so zeigt es sich, dass der Diastasegehalt des Endosperms unter etwas wechselnden Verhältnissen relativ stark schwanken kann; denn wir haben im Endosperm einmal 287 Diastase, das andere Mal 614 Diastase gefunden. Ebenso haben wir für Embryo ohne Schildchen 31,5 und 61,6 gefunden, und ähnlich verhält es sich für die anderen Organe. Trotzdem tritt in beiden Versuchen scharf hervor, dass das Endosperm viel mehr Diastase enthält als der Embryo ohne Schildchen, etwa zehnmal soviel, und dass der Diastasegehalt aller Theile der Frucht stark zugenommen hat.

Vergleichen wir die Resultate des Versuches 3 mit denen des Versuches 1, so sehen wir, dass das Endosperm jetzt fast 50Mal soviel Diastase enthält als vor der Keimung, das Schildchen etwa 20Mal mehr. Aus dem Versuche 3 geht dann hervor, dass die allergrösste Menge des Fermentes in dem Ephitel angehäuft ist; es ist fünfmal reicher an Diastase als das Endosperm und 50Mal wirksamer als die Wurzeln und Blätter. Man kann also zuerst sagen, dass mit der Energie des Stärkeumsatzes im Samen auch die Menge der Diastase in allen Organen wächst. Was dann das Verhältniss von Endosperm und Schildchen anbelangt, so ist ja im Allgemeinen hier wie im Versuch mit den noch ungekeimten Samen sicher, dass das Schildchen reicher an Diastase ist als das Endosperm. Auf-

fallend ist dabei, dass vor der Keimung das Schildchen ungefähr acht Mal soviel Diastase enthielt als das Endosperm, nach der Keimung dreimal so viel.

Sicher ist also die Möglichkeit, dass das Schildchen Diastase an das Endosperm abgeben kann. Angesichts des grossen Reichthums des Epithels an Diastase (1536) gegenüber dem Endosperm (287) kann man sich von vornherein des Eindrucks nicht erwehren, als sei das Epithel das Gewebe, welches die Diastase hauptsächlich oder allein producire.

Zuletzt will ich noch einen Versuch von Grüss (I, p. 288) anführen, aus welchem wenigstens so viel hervorgeht, dass das Schildchen relativ reich an Diastase ist. 20 Keimpflanzen mit 6—8 cm langem Stengel lieferten Glycerinextracte von folgendem relativen Reductionsvermögen:

Schildchen . . 0,177,
Aleuronschicht 0,09,
Endosperm . . 0,084.

Darnach könnte man auch schliessen, dass die Aleuronschicht sehr reich an Diastase sei, wenn nicht die früher angegebenen Bedenken gegen die Methode hier auch Geltung hätten. Wie wir sehen, zeigt uns der nächste Versuch soviel, dass nach zehntägiger Keimung die Verhältnisse sich nicht wesentlich geändert haben, jedenfalls nicht so, dass sie bei den individuellen Schwankungen genau definirt werden könnten.

Verhalten der Maisfrüchte nach zehntägiger Keimung.

Versuch 4.

Grössenverhältnisse der einzelnen Organe:

Länge der grössten Wurzel . .	18	cm,
mittlere Grösse	14	„
kleinste Wurzel	11	„
Länge des grössten Blattorganes	10,5	cm,
mittlere Grösse	7,5	„
kleinstes Blattorgan	6,0	„

18 Endosperme wogen in frischem Zustande . . 7,25 g,
dieselben getrocknet . . . . 4,085 „

Die Blattorgane von 18 Embryonen wogen frisch 7,65 g,
dieselben getrocknet . . . . 4,085 „

Die Wurzeln von 18 Embryonen wogen frisch . 1,46 g,
dieselben getrocknet . . . . 0,26 „

0,05 g getrockn. Endosperm nach dem Digeriren aufgekocht,	25 ccm = 92 mg Cu,
0,05 g getrockn. Endosperm vor dem Digeriren aufgekocht,	25 „ = 13 „ „
	25 ccm = 79 mg Cu = 10,4 Diastase.
0,05 g getrocknete Plumula nach dem Digeriren aufgekocht,	25 ccm = 38 mg Cu,
0,05 g getrocknete Plumula vor dem Digeriren aufgekockt,	25 „ = 11 „ „
	25 ccm = 27 mg Cu = 2,2 Diastase.
0,05 g getrocknete Wurzel nach dem Digeriren aufgekocht,	25 ccm = 14 mg Cu,
0,05 g getrocknete Wurzel vor dem Digeriren aufgekocht,	25 „ = 9 „ „
	25 ccm = 5 mg Cu = 0,4 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g getrocknetes Endosperm .	= 6,32 g Cu	= 832	Diastase,
1 „ getrocknete Plumula . .	= 2,16 „ „	= 176	„
1 „ getrocknete Wurzel . .	= 0,4 „ „	= 32	„
1 „ getrocknet. Embryo ohne Schildchen	= 1,81 „ „	= 147	„
1 g frisches Endosperm . .	= 3,54 g Cu	= 468	Diastase,
1 „ frische Plumula	= 0,29 „ „	= 23,9	„
1 „ frische Wurzel	= 0,071 „ „	= 5,7	„
1 „ frischer Embryo ohne Schildchen	= 0,258 „ „	= 20,9	„

Frage III:

Wächst der Diastasegehalt der verschiedenen Theile fünf bis zehn Tage im Dunkeln kultivirter isolirter Embryonen des Maises, und wie viel

Diastase und reducirende Substanz geben die wachsenden Embryonen an das Wasser ab?

Zur Orientirung in dieser Frage wurde folgender Versuch ausgeführt.

Versuch 5.

Eine grössere Portion Mais wurde zwei Tage quellen gelassen. Die Maiskörner wurden dann zunächst mit Sublimatwasser (1:1000) abgespült und mit sterilisirtem Wasser gut nachgewaschen. Darauf wurden die Embryonen mit sterilen Messern entfernt und sofort auf sterilisirte Gaze gelegt, die gerade noch in ein Gefäss mit sterilem Wasser hineintauchte. Das Gefäss selbst stand abgeschlossen unter einer Glasglocke auf einem Porzellanteller, umspült von Sublimatwasser und wurde im Dunkeln aufbewahrt.

Grössenverhältnisse nach sechs Tagen:

Länge der grössten Plumula 6,1 cm,
im Durchschnitt . . . 5,0 „
kleinste Plumula . . . 2,0 „

Länge der grössten Wurzel 8,1 cm,
im Durchschnitt . . . 4,7 „
kleinste Wurzel . . . 2,6 „

Im Ganzen waren es 20 Embryonen.

2,2	g	frische Schildchen	wogen	getrocknet	=	0,662 g
2,35	„	„ Plumula	„	„	=	0,32 „
0,805	„	„ Wurzeln	„	„	=	0,198 „

Es wurde der Zuckergehalt der Kulturflüssigkeit vor und nach der Inversion festgestellt. Gesammtmenge 200 g.

Zuckermenge bestimmt **vor** der Inversion.

25 ccm des auf 200 ccm gebrachten Kulturwassers gaben . . . . = 75 mg Cu,
die 200 ccm also . . . . = 600 „ „

Zuckermenge bestimmt **nach** der Inversion.

Zu diesem Zwecke wurden 50 ccm der Kulturflüssigkeit versetzt mit drei Tropfen Salzsäure vom specifischen Gewicht 1,11 und 1/2 Stunde auf 100° C. im Wasserbade erwärmt. Nach dem



Erkalten wurde mit Natronlauge neutralisirt und das Ganze auf 200 ccm aufgefüllt,

25 ccm hiervon gaben . . . . = 21 mg Cu,
die 200 ccm Kulturflüssigkeit also = 672 „ „

Das Wasser, in welches die Embryonen hineintauchten, wurde nach sechs Tagen in einen 200 ccm Kolben gegeben und derselbe zur Marke aufgefüllt. 40 ccm hiervon wurden zu 25 ccm einer 4procentigen Stärkelösung gegeben, 24 Stunden bei 55° C. digeriren lassen, dann sofort aufgekocht und nach dem Erkalten auf 100 ccm aufgefüllt.

a) 25 ccm Stärkelösung (4procentige) + 40 ccm destillirten Wassers, 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm hiervon = 12 mg Cu.

b) 25 ccm Stärkelösung (4procentige) + 40 ccm des Kulturwassers, 24 Stunden digerirt, aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm hiervon = 38 mg Cu.

Von vornherein waren in diesen 25 ccm enthalten an reducirender Substanz, einmal die aus den 25 ccm Stärkelösung stammenden Mengen = 12 mg Cu, ferner die in der Kulturflüssigkeit selbst enthaltene Menge = 30 mg Cu. Es sind hiernach jetzt 4 mg Kupfer weniger gefunden worden. Darnach ist keine Diastase in das Wasser übergegangen.

1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,02 g getrocknetes Schildchen, vor dem Digeriren aufgekocht, das Ganze 24 Stunden digerirt, dann auf 100 ccm aufgefüllt,

   25 ccm hiervon = 14 mg Cu.

2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,02 g getrocknetes Schildchen, 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

   25 ccm hiervon = 102 mg Cu,
   obige 14 mg abgezogen 14 „ „
   demnach 25 ccm = 88 mg Cu = 14,1 Diastase.

3. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g getrocknete Plumula, vor dem Digeriren mit 5 ccm Wasser aufgekocht, das Ganze dann 24 Stunden digerirt, darauf aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

   25 ccm hiervon = 13 mg Cu.

4. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g getrocknete Plumula, 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm hiervon	= 73 mg Cu,	
obige 13 mg abgezogen	13 „ „	
demnach 25 ccm	= 60 mg Cu	= 5,9 Diastase.

5. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g getrocknete Wurzel, vor dem Digeriren aufgekocht, das Ganze nach 24-stündigem Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm hiervon = 14 mg Cu.

6. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g getrocknete Wurzel, nach dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm hiervon	= 92 mg Cu,	
obige 14 mg abgezogen	14 „ „	
demnach 25 ccm	= 78 mg Cu	= 10,1 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g trocknes Schildchen . .	= 17,6 g Cu	= 2832	Diastase,
1 „ trockne Plumula . . .	= 4,8 „ „	= 472	„
1 „ trockne Wurzel . . .	= 6,24 „ „	= 808	„
1 „ ganzer getrockneter Embryo	= 12,22 „ „	= 1843	„
1 „ trockner Embryo gab an Wasser ab . . .		—	„

1 g frisches Schildchen . .	= 2,28 g Cu	= 849	Diastase,
1 „ frische Plumula . . .	= 0,653 „ „	= 64,2	„
1 „ frische Wurzel	= 1,52 „ „	= 198,7	„
1 „ ganzer frischer Embryo .	= 2,69 „ „	= 406	„

1 „ frischer Embryo gab an Wasser an reducirender Substanz ab:

vor der Inversion . . .	112 mg Cu	= 57 mg Dextrose,
nach der Inversion . .	125 „ „	= 63,7 „ „

Das auffallendste Resultat des Versuches 5 ist unbedingt das Fehlen jeder Ausscheidung von Diastase durch die Embryonen. Allerdings ist bei dem Versuche nur die von vier Embryonen eventuell ausgeschiedene Menge Diastase direct gemessen worden, und es wäre möglich, dass die Menge so gering

wäre, dass ihre Wirkung durch die Versuchsfehler verdeckt würde. Zweitens ist hervorzuheben, dass die 20 Embryonen an das Wasser eine Menge von kupferreducirender Substanz abgegeben hatten, welche ungefähr 0,057 g Dextrose gleich kam. Nach der Inversion stieg das Reductionsvermögen auf 0,067 g Dextrosewirkung.

Die Menge der Diastase im Schildchen ist sicher nach 6tägigem Liegen gegenüber der Menge der Diastase im Schildchen des ungekeimten Samens erheblich gestiegen, dagegen wahrscheinlich zurückgeblieben gegenüber dem Diastasegehalte des Schildchens der normal keimenden Samen.

Es ist also sicher, dass die Diastase im Schildchen oder wenigstens im isolirten Embryo selbstständig erzeugt wird. Um zu versuchen, ob vielleicht das Fehlen eines Reizes die Ausscheidung der Diastase verhindert habe, wurde in dem folgenden Experimente versucht, ob Stärke die Schildchen zur Diastasesecretion reizen könne.

Frage IIIa.

Wie verhält sich der Diastasegehalt der verschiedenen Theile der sechs Tage im Dunkeln kultivirten isolirten Embryonen des Maises, wenn man denselben Stärke zur Verfügung stellt, bei gleichzeitigem Vorhandensein von Wasser, und scheiden die Embryonen Diastase aus?

Versuch 5a.

Maisfrüchte wurden wiederum zwei Tage quellen lassen, dann mit Sublimatwasser schnell abgespült und mit sterilisirtem Wasser gut abgewaschen. Darauf wurden die Embryonen mit sterilen Messern entfernt und auf 2 g angefeuchtete sterile Lintner'sche Stärke gelegt. Die Stärke wurde vorher in einem sterilen Kölbchen, das mit Watte verstopft war, zweimal mit Unterbrechung von einem Tage eine Stunde bis 105° C. erwärmt. Das Ganze wurde unter einer Glasglocke sechs Tage im Dunkeln stehen gelassen. Es wurden zur Vergleichung zwei Versuche mit je zwölf Embryonen in der beschriebenen Weise angesetzt. Nach

sechs Tagen wurde die Stärke eines jeden Versuches mit 50 ccm sterilen Wassers in einen 100 ccm Kolben gespült. Die eine Portion wurde sofort aufgekocht und dann 24 Stunden bei 55° C. digeriren lassen, während die andere Portion ebenfalls 24 Stunden bei 55° C. digerirt und darauf erst aufgekocht wurde. Beide Kolben wurden nach dem Erkalten auf 100 ccm aufgefüllt.

No. I. Stärkelösung vor dem Digeriren aufgekocht,
25 ccm gaben = 36 mg Cu.

No. II. Stärkelösung nach dem Digeriren aufgekocht,
25 ccm gaben = 37 mg Cu.

Schildchen, Plumula und Wurzeln wurden von einander getrennt.

Länge der grössten Plumula 6,2 cm,
im Mittel . . . . . . 4,7 „
kleinste . . . . . . 3,4 „

Länge der grössten Wurzel 5,7 cm,
im Mittel . . . . . . 3,8 „
kleinste . . . . . . 2,5 „

Die einzelnen Theile wurden einen Tag in Chloroformdampf gestellt, gewogen, zehn Tage über Schwefelsäure getrocknet und wieder gewogen.

12 Schildchen wogen vor dem Trocknen . . . . . 1,14 g
nach dem Trocknen . . . . 0,398 „

Plumula + Wurzeln von zwölf Embryonen wogen frisch 1,25 g
getrocknet . . . . 0,15 „

1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,02 g getrocknete Schildchen vor dem Digeriren aufgekocht und nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 12 mg Cu.

2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,02 g getrocknete Schildchen, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm davon = 71 mg Cu,
obige 12 mg abgezogen = 12 „ „
25 ccm = 59 mg Cu = 5,7 Diastase.

3. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g getrocknete Plumula + Wurzeln, vor dem Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon = 10 mg Cu.

4. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g getrocknete Plumula + Wurzeln, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon = 41 mg Cu,
obige 10 mg abgezogen = 10 „ „
25 ccm = 31 mg Cu = 2,6 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g trockenes Schildchen . .	= 11,8	g Cu	= 1140	Diastase,
1 „ frisches Schildchen . .	= 4,11	„ „	= 397	„
1 „ getrocknete Plumula + Wurzeln	= 2,48	„ „	= 208	„
1 „ frische Plumula + Wurzeln	= 0,297	„ „	= 25	„
1 „ ganzer getrockn. Embryo	= 9,25	„ „	= 890	„
1 „ ganzer frischer Embryo .	= 2,12	„ „	= 204	„

Der Versuch 5a bestätigt zuerst das, was über den Diastasegehalt des Schildchens von Versuch 5 beobachtet wurde. Ferner zeigt sich auch hier, das grössere Mengen von Diastase nicht ausgeschieden werden, selbst wenn dem Schildchen Stärke geboten wird. Es war allerdings auch hier nur das Excret von drei Embryonen direkt zur Wirkung auf die Stärkelösung gekommen, doch sollte man meinen, dass, wenn die Diastase von drei Schildchen bei dem direkten Versuche ungefähr 350 mg Cu zu geben im Stande ist, die ausgeschiedene Menge der Diastase gross genug sein müsste, um bestimmbar zu werden, um so mehr, als ja das Epithel ungefähr doppelt so reich an Diastase ist als das Gesammtschildchen.

Das letzte Resultat dieser Versuche steht aber durchaus nicht im Einklange mit dem, was andere Autoren gefunden haben. Einmal widersprechen sich manche Angaben, dann sind die Versuche zum Theil ohne die genügende Vorsicht gemacht und alle daher kritisch angreifbar. Van Tieghem (II) und Bloziszewski (I) zeigten, dass Keimlinge aus Stärkebrei Nahrung

aufnehmen konnten. Grüss stellte Maispflanzen in Stärkekleister und konnte dann Zucker im Kleister nachweisen. Er sagt, ohne Belege anzugeben, dass Keimpflanzen an Wasser Diastase abgäben. Ferner sagt er, wiederum ohne Belege dafür zu geben, dass sowohl intakte Keimpflanzen, als solche, deren Epithel entfernt war, Diastase in einprocentige Stärkelösung ausgeschieden hätten (p. 398). Abgesehen davon, das solche Behauptungen, die nicht durch Zahlen gestützt sind, der Beachtung kaum werth sind, hat Grüss wie van Tieghem und Bloziszewski offenbar die Lösungen nicht steril gehalten und können sie also durch Bakterienwirkung getäuscht worden sein. Ferner hat Grüss nicht beachtet, dass die Embryonen Zucker ausscheiden und sich dadurch wahrscheinlich täuschen lassen, indem er annahm, der Zucker, welcher in den Stärkelösungen auftrat, sei durch ausgeschiedene Diastase gebildet worden. Es ist das um so wahrscheinlicher, als er die Zuckerausscheidung der Keimlinge nirgends erwähnt, sie aber bei Versuchen mit *Mirabilis* (p. 399) besonders betont.

Ganz ähnliche Einwände lassen sich gegen die Versuche von Brown und Morris (I) beibringen. Wenn diese Autoren finden, dass Kleister von den aufgelegten Embryonen angegriffen werde, und dass abgeschnittenes Epithel den Kleister angreift, so könnten Bakterien im Spiele gewesen sein, oder es könnte das Epithel etwas Diastase verloren haben, weil es absterbende Zellen enthält. Gegen letztere Annahme könnte in's Feld geführt werden, dass Embryonen ohne Epithel nach den Autoren keine Diastase ausscheiden (p. 494), aber dem widersprechen wieder die Angaben von Grüss.

Wenn mit Chloroform getödtete Embryonen die Stärke nicht angriffen (p. 490), so konnte das auf Sterilisirung der Embryonen beruhen, auf Bakterienausschluss. Wenn Brown und Morris finden, dass todte Endosperme lebende Embryonen ernähren können, so wäre auch hier die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass Bakterien die Lösung der Stärke etc. besorgt hätten. Nur der Versuch von Hansteen ist wohl fast einwandsfrei, da Hansteen die Bakterien berücksichtigte. Hansteen goss an die Schildchen von Embryonen Gyps, der mit viel Stärke versetzt war. Die Stärkekörner in der Nähe des Schildchens wurden

nach 5—7 Tagen angegriffen. Es fragt sich nur, ob nicht eine Verletzung des Epithels des Schildchens, beim Herauslösen oder durch den Gypsverband stattgefunden hatte.

Zur Orientirung in dieser Frage wurden nun folgende Versuche angestellt.

Frage IV:

Greifen wachsende Embryonen von ihrem Schildchen aus gequollene Stärke an, die in Gelatine eingeschmolzen ist, auf welcher die Schildchen ruhen?

Versuch 6.

Es wurde eine 10procentige Gelatinelösung in destillirtem Wasser hergestellt, die durch Natriumcarbonat fast neutral und sorgfältigst steril gemacht wurde, durch dreimaliges Aufkochen an drei Tagen. In diese heisse Gelatine wurde etwas sterile Weizenstärke eingerührt, und die Masse wurde in Petrischalen ausgegossen. Nach dem Erkalten wurden sechs Embryonen aufgelegt, die nach der Herauslösung aus den sterilisirten Früchten mit sterilem Wasser gewaschen und dann noch einen Tag im feuchten Raume liegen gelassen worden waren, um die verletzten Zellen absterben zu lassen. Die Embryonen wurden vor dem Auflegen nochmals mit sterilem Wasser gewaschen. Dieselben blieben unter steriler Glocke sechs Tage liegen, bei Sorge für genügend feuchte Luft und bei einer Temperatur von 15—20° C. Nach dieser Zeit wurde ein Embryo mit einem daransitzenden Gelatinestück herausgehoben und untersucht. Es wurden Schnitte durch das Schildchen und die daran sitzende Gelatine gemacht, und diese Schnitte wurden in Jodjodkaliumlösung eingelegt. Bei mikroskopischer Betrachtung stellte sich heraus, dass sich ein grosser Theil der Stärke an den Boden gesetzt hatte, da die Gelatine noch etwas zu dünn gewesen war, als sie ausgegossen wurde. Sehr zahlreiche gequollene kleine Stärkekörner waren aber gleichmässig in der Gelatine vertheilt. Es konnte keine Lösung der gequollenen Stärkekörner in der Nähe des Schildchens beobachtet werden.

Die Embryonen befinden sich, wenn sie auf Stärkegelatine liegen, in relativ denselben Verhältnissen, als wenn sie am Endosperme liegen, da ja dort auch die erzeugten Zuckermassen nur dadurch abgeleitet werden, dass das Epithel sie aufnimmt. Für eine Ableitung der Zuckermassen, welche durch die Diastase erzeugt werden, braucht also auch hier nicht gesorgt zu werden. Hansteen hat es gethan, und ich habe deshalb noch einen Versuch gemacht, bei dem Ableitung erfolgte.

Es wurde ein Stück der Gelatine mit den oben erwähnten Embryonen auf Gaze gebracht, die mit der Fläche auf 400 ccm sterilem Wasser lag. Nach zwei Tagen wurde die dem Schildchen anliegende Gelatine untersucht. Es konnte keine auffallende Veränderung der gequollenen Stärke nachgewiesen werden. Da die Gelatine zu trocken war, wurde auf die Gelatine, welche die letzten Keimlinge trug, etwas steriles Wasser gegossen und der Versuch noch einige Tage fortgesetzt. Die Plumula war nur wenig gewachsen, sie war ungefähr 4 cm lang. Eine Veränderung der Stärke hatte auch hier in der Nähe des Schildchens nicht stattgefunden.

Versuch 6a (Controlversuch).

Es wurde ganz ähnlich verfahren wie bei dem vorigen Versuche. Zunächst wurde eine 7procentige Gelatinelösung in grösserer Menge bereitet. Die Gelatinelösung wurde in drei Partien getheilt, zu der einen noch warm etwas sterile Weizenstärke gerührt, zu der zweiten, nachdem sie halb erkaltet war. Alle drei Portionen wurden in Petrischalen gegossen. Nach dem vollständigen Erkalten wurden, genau wie oben, die sorgfältig steril behandelten Embryonen aufgelegt, auf jede Schale zwölf Stück. Dieselben standen unter steriler Glocke und bei einer Temperatur von 15—20° C. acht Tage. Nach dieser Zeit wurden die Embryonen entfernt, die Gelatine der drei Schalen bei 30° C. verflüssigt und die Gesammtmenge in einen Kolben gegeben. Im Ganzen waren es 120 g. Dieselben wurden in zwei gleiche Portionen getheilt.

No. I. 60 ccm Gelatinelösung vor dem Digeriren aufgekocht und nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm = 20 mg Cu.



No. II. 60 ccm Gelatinelösung nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 18 mg Cu.

Der Versuch 6a bestätigt also das, was die Versuche 5a und 6 bereits feststellten. Es scheint demnach aus allen diesen Versuchen mit Sicherheit hervorzugehen, dass das Epithel des Schildchens der Maissamen nicht im Stande ist, Ferment auszuscheiden, dass vielmehr das Epithel nur ein Apparat ist, der dazu dient gelieferte Nahrung aufzusaugen.

Frage V:

Nimmt der Diastasegehalt von Endospermen zu, die von zwei Tage gequollenen Maisfrüchten entnommen sind, wenn man dieselben im absolut feuchten Raume so hält, dass sie keine Stoffe abgeben können?

Versuch 7.

Von Maiskörnern, die zwei Tage gequollen waren, wurden die Schildchen mit sterilen Messern entfernt und dann die Endosperme auf ein vorher ausgeglühtes Platindrahtnetz gelegt, welches über einem vollen Gefäss sterilen Wassers lag, ohne dass das Wasser das Netz berührte. Das Ganze stand unter einer sterilen Glasglocke fünf Tage im Dunkeln, bei einer Tages- und Nachttemperatur von 15—20° C. Die Endosperme wurden darauf einen Tag in Chloroformdampf gestellt, gewogen, über Schwefelsäure zehn Tage getrocknet, zerrieben, nochmals einen Tag getrocknet und wieder gewogen.

20 Endosperme wogen in frischem Zustande 11,65 g,
dieselben getrocknet . . . . . . 7,976 „

1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, vor dem Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 18 mg Cu.

2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm hiervon = 38 mg Cu,
obige 18 mg hiervon abgezogen = 18 „ „
25 ccm = 20 mg Cu = 1,6 Diastase.

1 g getrocknetes Endosperm = 800 mg Cu = 64 Diastase,
1 „ frisches Endosperm . . = 547 „ „ = 43,7 „

Obiger Versuch wurde wiederholt.

Versuch 7a.

10 Endosperme wogen in frischem Zustande 6,325 g,
dieselben getrocknet . . . . . 4,003 „

1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 getrocknetes Endosperm vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 11 mg Cu.
2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 getrocknetes Endosperm nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 40 mg Cu,
   obige 11 mg abgezogen = 11 „ „
   25 ccm = 29 mg Cu = 2,4 Diastase,

also 1 g getrocknetes Endosperm = 1160 mg Cu = 96 Diastase,
1 „ frisches Endosperm . . = 744 „ „ = 60 „

Frage VI:

Nimmt der Diastasegehalt von Endospermen zu, die von zwei Tage gequollenen Maisfrüchten entnommen sind, wenn man dieselben fünf Tage auf feuchtes, steriles Fliesspapier legt?

Versuch 8.

20 Maiskörner wurden zwei Tage quellen gelassen und die Schildchen dann entfernt. Die Endosperme wurden auf feuchtem, sterilisirtem Fliesspapier unter einer Glasglocke fünf Tage im Dunkeln stehen gelassen, alsdann einen Tag in Chloroformdampf gestellt und gewogen. Darauf wurden sie zehn Tage über Schwefelsäure getrocknet, wieder gewogen, zerrieben, nochmals einen Tag getrocknet und gewogen.

20 Endosperme wogen in frischem Zustande 10,01 g,
dieselben getrocknet . . . . . . 5,67 „



1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 g getrocknetes Endosperm vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt,
   25 ccm = 13 mg Cu.

2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 g getrocknetes Endosperm nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 78 mg Cu,
   obige 13 mg abgezogen 13 „ „
   25 ccm = 65 mg Cu = 6,7 Diastase,

also 1 g getrocknetes Endosperm = 260 mg Cu = 26,8 Diastase,
1 „ frisches Endosperm . . = 147 „ „ = 15,18 „

Frage VII:

Nimmt der Diastasegehalt von Endospermen zu, die von zwei Tage gequollenen Maisfrüchten entnommen sind, wenn man an Stelle des Schildchens Gyps eingiesst und sie so, sterilisirt, mit dem Gypsschildchen in Wasser getaucht liegen lässt, welches die Ausscheidungsproducte des Endosperms aufnehmen kann?

Versuch 9.

Maisfrüchte wurden zunächst wieder zwei Tage quellen gelassen, die Schildchen dann entfernt und an deren Stelle eine Gypssäule in folgender Weise eingesetzt. Fein gepulverter Gyps wurde in einem Kolben im Trockenschrank eine Stunde bei 160° C. sterilisirt. Der sterile Gyps wurde darauf in geringen Mengen auf ein Uhrglas gegeben, mit etwas sterilem Wasser angerührt und dann an Stelle des Schildchens die Oeffnung damit angefüllt, so dass das Gypsfüsschen noch etwa 0,5 cm hervorragte. Die Endosperme wurden so in etwa 80 ccm steriles Wasser gestellt, dass gerade noch die Gypsfüsschen hineintauchten. Das Ganze stand auf einem sterilen Porzellanteller unter einer Glasglocke fünf Tage im Dunkeln. Nach dieser Zeit wurde der Gyps sorgfältig entfernt, die Endosperme wurden einen Tag in Chloroformdampf gestellt, gewogen, über Schwefelsäure zehn Tage

getrocknet, zerrieben, wieder einen Tag getrocknet und nochmals gewogen.

16 Endosperme wogen in frischem Zustande 6,52 g,
dieselben getrocknet . . . . . . 4,43 „

Eine Corrosion der Stärkekörner war nach fünf Tagen kaum bemerkbar.

1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 g getrocknetes Endosperm vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 19 mg Cu.

2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 g getrockneten Endosperm nach dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm gaben = 71 mg Cu,
obige 19 mg abgezogen = 19 „ „
25 ccm = 52 mg Cu = 4,9 Diastase,

also 1 g getrocknetes Endosperm = 208 mg Cu = 19,6 Diastase,
1 „ frisches Endosperm . . = 141 „ „ = 13,3 „

Das Wasser, worin die Endosperme mit dem Gypsfüsschen standen, wurde in einen 100 ccm-Kolben gegeben und derselbe zur Marke aufgefüllt. Das Reductionsvermögen wurde direct bestimmt.

25 ccm davon gaben . . . = 55 mg Cu (28,4 mg Dextrose),
also die 100 ccm . . . . = 220 „ „ (113,6 „ „),
1 g frisches Endosperm gab ab = 31,9 „ „ (18,9 „ „).

Der Versuch wurde wiederholt, indem dabei die Wassermenge bis auf 300 ccm vergrössert, die Diastasemenge im Wasser bestimmt wurde und ebenso die Zuckermenge vor und nach der Inversion.

Versuch 10.

24 Endosperme wogen in frischem Zustande 14,65 g,
dieselben getrocknet . . . . . 8,56 „

1. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 g Endosperm, vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm davon gaben = 24 mg Cu.



2. 50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 1 g Endosperm **nach** dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm hiervon = 96 mg Cu,
   obige 24 mg abgezogen = 24 „ „
   25 ccm = 72 mg Cu = 8,3 Diastase,

also 1 g getrocknetes Endosperm = 288 mg Cu = 33,2 Diastase,
1 „ frisches Endosperm . . = 167 „ „ = 19,3 „

Das Wasser, in dem die Gypsfüsschen standen, wurde in einen 300 ccm-Kolben gegeben und derselbe zur Marke aufgefüllt.

1. 25 ccm Stärkelösung (4procentige) + 25 ccm des Kulturwassers **vor** dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt,
   25 ccm davon = 24 mg Cu.
2. 25 ccm Stärkelösung (4procentige) + 25 ccm des Kulturwassers **nach** dem 24stündigem Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt,
   25 ccm hiervon gaben = 26 mg Cu,
   obige 24 ccm abgezogen 24 „ „
   25 ccm = 2 mg Cu.

Nach diesem letzteren Versuche bleibt es zweifelhaft, ob Diastase übergegangen ist, da das Plus von 2 mg Cu innerhalb der Fehlergrenze liegt.

Zuckermenge bestimmt vor und nach der Inversion (im Ganzen 300 ccm Auszug).

Vor der Inversion:

25 ccm gaben . . . . = 26 mg Cu (0,014 Dextrose),
die 300 ccm Auszug also . . = 312 „ „ (0,168 „).

Nach der Inversion:

Es wurden 50 ccm des obigen Auszuges von 300 ccm versetzt mit drei Tropfen Salzsäure vom spec. Gewicht 1,11 und $^1/_2$ Stunde auf 100° C. im Wasserbade erwärmt. Nach dem Erkalten wurde mit Natronlauge neutralisirt und das Ganze auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon gaben . . . = 32 mg Cu (0,017 Dextrose),
die 300 ccm Auszug also . . = 768 „ „ (0,204 „).

1 g frischer Embryo gab an Wasser an reducirender Substanz ab:

Vor der Ihversion . . . = 21 mg Cu (0,0115 Dextrose),
nach „ „ . . . = 52 „ „ (0,0269 „).

Obige Versuche wurden in derselben Weise wiederholt, jedoch wurden die Endosperme mit Gypsfüsschen statt 5 nun 18 Tage im Dunkeln stehen gelassen und statt 300 ccm jetzt 800 ccm Wasser verwendet.

Versuch 11.

20 Endosperme wogen in frischem Zustande 20,25 g,
dieselben getrocknet . . . . . 6,56 „

Die Trockensubstanz ist hiernach auf die Hälfte gesunken, es ist also über die Hälfte Trockensubstanz ausgewandert. Die Endosperme waren im Uebrigen nach 18 Tagen noch vollkommen bakterienfrei und frei von Eumyceten. Eine vollkommene Lösung der Stärke hatte nicht stattgefunden, doch zeigten die Stärkekörner alle zahlreiche Porenkanäle.

Die Gesammtmenge des Wassers, über dem die Gypsfüsschen standen, betrug 800 g.

1. 25 ccm Stärkelösung (4procentige) + 50 ccm Kulturwasser vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 49 mg Cu.

2. 25 ccm Stärkelösung (4procentige) + 50 ccm Kulturwasser nach dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt, 25 ccm = 50 mg Cu.

Es ist hiernach so gut wie keine Diastase übergegangen, was ja auch schon aus dem vorigen Versuche mit Wahrscheinlichkeit hervorging.

Zuckerbestimmung vor und nach der Inversion (im Ganzen 800 ccm Kulturwasser).

Vor der Inversion:

25 ccm gaben . . . . . . = 33 mg Cu (0,0175 Dextrose),
die 800 ccm Auszug also . = 1056 „ „ (0,560 „).



1 g frisches Endosperm gab demnach an Wasser ab an reducirender Substanz = 52 mg Cu (0,0269 Dextrose).

Nach der Inversion:

100 ccm von den obigen 800 ccm Kulturwasser wurden mit vier Tropfen Salzsäure vom spec. Gewicht 1,11 versetzt und wieder $^1/_2$ Stunde im Wasserbade auf 100° C. erwärmt. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit neutralisirt.

25 ccm gaben . . . . = 24 mg Cu (0,013 Dextrose),
die 800 ccm Kulturwasser also = 768 „ „ (0,416 „).

1 g frisches Endosperm gab an Wasser also ab an reducirender Substanz = 37 mg Cu (0,0194 Dextrose).

1. 50 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
   25 ccm gaben = 12 mg Cu.
2. 50 ccm Stärkelösung (2 procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, nach dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
   25 ccm gaben = 80 mg Cu,
   obige 12 mg abgezogen = 12 „ „
   25 ccm = 68 mg Cu = 7,4 Diastase,

also 1 g getrockn. Endosperm = 2,72 g Cu = 296 Diastase,
1 „ frisches Endosperm . = 0,881 „ „ = 95,8 „

Aus den Versuchen mit dem Endosperm geht mit Sicherheit hervor, dass die Diastase sich in dem isolirten Endosperme zu vermehren vermag.

In dem zwei Tage gequollenen Endosperme fanden wir:
für 1 g Frischsubstanz . . . . 11,2 und 5,8 Diastase,
„ 1 „ Trockensubstanz . . . . . . 14 und 10,1 „

Versuch		Tage	für Trockensubstanz		für Frischsubstanz	
Versuch 7	ergab am	5.	— 64	Diastase,	— 43,7	Diastase,
„ 7a	„ „	5.	— 96	„	— 60	„
„ 8	„ „	5.	— 26,8	„	— 15,18	„
„ 9	„ „	5.	— 19,6	„	— 11,7	„
„ 10	„ „	5.	— 33,2	„	— 19,3	„
„ 11	„ „	18.	— 296	„	— 95,8	„

Wir finden hier also überall eine grössere Zahl als bei den zwei Tage gequollenen Endospermen, allerdings bei den 5tägigen Versuchen durchaus wechselnde Zahlen. Es hängt das wohl damit zusammen, dass von diesen Versuchen einige bei relativ starken Temperaturschwankungen ausgeführt wurden. Gerade in den kältesten Wintertagen, Ende Januar und Anfang Februar, wurden einige Versuche dieser Art angestellt, allerdings in einem Zimmer, das Tag und Nacht geheizt wurde. Allein es können auch noch andere, nicht untersuchte Schwankungen in den äusseren Verhältnissen die Ursache gewesen sein. Wenn man die Lösung der Stärkekörner in dem isolirten Endosperme beobachtet, so sieht man, dass die Stärkekörner meist erst am 8. Tage angegriffen werden. Anscheinend sind fünf Tage zum Heranwachsen der Diastasemenge unter diesen Verhältnissen eine zu kurze Zeit. Es beginnt erst später eine energische Steigerung der Wirkung. Unter zufällig günstigen Verhältnissen (Versuch 7a) kann die Steigerung etwas früher kräftig ansetzen. Nach 18 Tagen dagegen ist die Steigerung der Fermentmenge eine ganz auffällige.

Die in Erde eingelegten, zwei Tage gequollenen Früchte beginnen mit energischem Wachsthum auch erst nach 5—6 Tagen. Keimlinge, die am 17. III. eingesetzt waren, wuchsen bis zum 23. III. sehr langsam, so dass die Grösse der Plumula 4 cm betrug. Vom 23. III. bis 25. III. verlängerte sich die Plumula um 3,5 cm. Vom 25. III. bis 28. III. sogar um 6,5 cm. Vom 28. III. bis 2. IV. um 12 cm. Am 23. III. waren die Stärkekörner schon überall corrodirt, doch war die Füllung mit Stärke in allen Zellschichten noch eine verhältnissmässig gleichartige. Am 25. III. waren die Zellen auch noch kräftig mit Stärke gefüllt, aber die Stärkekörner sehr stark corrodirt mit vielen Kanälen. Am 28. III. dagegen zeigten sich in den dem Schildchen anliegenden Endospermzellen schon weniger Stärkekörner und dieselben sehr stark corrodirt. Am 2. IV. (nach 16 Tagen) war in den äusseren Zellschichten fast keine Stärke mehr sichtbar, während nach der Mitte zu noch zahlreiche halb in Lösung begriffene Stärkekörner zu sehen waren.

Das Anwachsen der Diastasemenge im isolirten Endosperme spricht mit Deutlichkeit dafür, dass das Endosperm lebt. Die Frage, ob das Endosperm lebe oder nicht, ist von anderen Autoren schon aufgeworfen worden. Schon van Tieghem (I, p. 183) hatte den Satz ausgesprochen, dass das Endosperm von *Canna* und *Mirabilis* nur „une nourriture“ keine „nourrice“ sei, während die Endosperme von *Ricinus* und *Pinus* activ seien. Er schloss dieses daraus, dass das isolirte Endosperm im Keimbette bei 25—30° C. keine Veränderung zeigte, und dass im Samen die Lösung der Reservestoffe vom Schildchen aus vorschritt.

Brown und Morris beantworten die Frage für Gerstenendosperm dahin, dass dasselbe todt sei.

Sie isolirten Endosperme von Gerstenfrüchten, steckten sie in Löcher von Glimmerplatten, die auf Wasser aufgelegt waren, und fanden, dass keine Lösung der Stärkekörner eintrat, trotzdem die Lösungsproducte auswandern konnten.

Das Versuchsresultat von van Tieghem konnte man nach dem, was für Laubblätter schon bekannt war (Arthur Meyer, p. 217), jetzt voraussehen. Es wird ja dort bei Sistirung der Ableitung der Lösungsproducte der Stärke die Lösung der Stärkekörner sofort unterbrochen; dagegen waren die Versuche von Brown und Morris anscheinend einwurfsfrei.

Mit den Resultaten der Versuche der letzteren Autoren stehen jedoch die von Pfeffer (I, 1893) und Hansteen (I, 1894) gewonnenen im directen Widerspruche. Hansteen (p. 420) versah die Endosperme mit Gypsschildchen und legte sie auf den Boden von Krystallisirschalen, die so weit mit Wasser bedeckt waren, dass das Wasser etwa die Hälfte der Höhe der eingesetzten Gypssäulchen bedeckte. Die Versuche wurden steril gehalten. „Schon nach 10—13 Tagen hatten die der Contactfläche mit dem Gyps benachbarten Zellschichten des Endosperms ihren ganzen Stärkeinhalt verloren, während in den ferner liegenden Zellschichten sämmtliche Stärkekörner mehr oder weniger corrodirt waren. Zumeist waren nur Reste von den Körnern zu sehen, und das schon weit entleerte Endosperm war ganz weich geworden und theilweise im Collabiren begriffen.“ Waren dagegen die Endosperme von Mais durch die angegossenen Gyps-

säulchen mit nur ganz wenig Wasser in Verbindung, so fand keine nennenswerthe Entleerung der Endospermzellen statt. Ebenso fand keine nennenswerthe Lösung statt, wenn die mit Gypsschildchen versehenen Endosperme in eine grössere Menge Zuckerlösung (0,5 Dextrose + 0,5 Saccharose auf 100 Wasser) eingesetzt wurden.

Mit Gerste erhielt Hansteen die gleichen Resultate. Von den Versuchen Hansteen's würde nur der letztere vorzüglich dann mit Sicherheit beweisen, dass das Endosperm lebt, wenn weder Dextrose noch Rohrzucker auswanderten, oder wenn derselbe Effect mittelst eines nicht auswandernden Kohlehydrates erreicht werden könnte. Es würde damit bewiesen sein, dass das Endosperm reizbar wäre. Die Erscheinungen, dass Endosperme ihre Stärke nicht lösen, wenn die Ableitung der Inversionsproducte verhindert wurde, dass sie dieselben lösen, wenn letztere abgeleitet werden, könnte auch bei todten Endospermen eintreten, da ja Diastase in den Endospermen vorhanden ist, und die Wirkung der Diastase durch sich anhäufende Stoffe gehindert werden könnte.

Ich bemerke noch, dass folgender Versuch von Haberlandt mit Hansteen's Resultaten gut stimmt. Als Haberlandt (I, p. 46) von ruhenden Roggenfrüchten den Embryo bis auf das Schildchen abschnitt, trat beim Einlegen der Früchte in ein Keimbett kein Angriff der Stärkekörner ein, wohl aber geschah dies, wenn der verstümmelte Keimling auch nur ein Würzelchen entwickelte. Maiskörner verhielten sich (wohl da das Schildchen stärker wuchs) etwas anders, dort begann die Lösung, hörte aber sehr bald auf.

Alle diese Versuche sprechen also für die Annahme, dass das Endosperm des Maises lebt. Ich habe, um sicher zu gehen, zuletzt noch einen Versuch gemacht, bei dem von möglichst gleichen Früchten und einer grösseren Anzahl ausgegangen wurde. Herr Prof. Meyer hielt die Wiederholung der Versuche schon deshalb für geboten, weil Brown und Morris (I, p. 527) für die Gerste zu einem anderen Resultate gekommen waren. 50 Gersten-Endosperme lieferten nach 5 tägiger Keimung 19,23 g CuO; 50, die dann noch zwei Tage gelegen hatten, 13,91 g CuO, ihr Diastasegehalt sollte sich darnach wie 19 : 15

verhalten haben. 50 Endosperme unverletzter, sieben Tage gekeimter Samen lieferten 21,89 g CuO. Ich kann nicht angeben, wo hier der Fehler liegt. Der hier folgende Versuch beweist sicher, dass der Diastasegehalt von Endospermen steigt, die, ohne dass Ableitung der Reactionsproducte erfolgt, einige Zeit liegen.

Versuch 12.

50 möglichst gleichförmig ausgesuchte Maiskörner wurden wieder zunächst zwei Tage quellen gelassen und darauf mit sterilem Messer die Embryonen entfernt.

25 Endosperme hiervon wurden in gewöhnlicher Weise getrocknet und direct auf ihren Diastasegehalt untersucht.

Diese 25 Endosperme wogen in frischem Zustande 18,17 g,
dieselben getrocknet . . . . 10,25 „

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, vor dem Digeriren aufgekocht und nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm hiervon = 9 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm hiervon = 17 mg Cu,
obige 9 mg davon abgezogen = 9 „ „
demnach 25 ccm = 8 mg Cu = 0,75 Diastase,
also 0,1 g Endosperm . . . . = 3 „
1 „ getrocknetes Endosperm . . = 30 „
1 „ frisches Endosperm . . . . . = 16 „

Die weitere Hälfte (25 Stück) der Endosperme wurden zwölf Tage auf feuchtem, sterilem Fliesspapier unter einer Glasglocke liegen gelassen, alsdann in gewöhnlicher Weise getrocknet und auf ihren Diastasegehalt geprüft.

Diese 25 Endosperme wogen in frischem Zustande 15,46 g,
dieselben getrocknet . . . . 8,12 „

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, vor dem Digeriren aufgekocht und nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm hiervon = 12 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes Endosperm, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm hiervon = 26 mg Cu,
obige 12 mg abgezogen = 12 „ „
demnach 25 ccm = 14 mg Cu = 1,1 Diastase,
also 0,1 g getrocknetes Endosperm . . = 4,4 „
1 „ getrocknetes Endosperm . . = 44 „
1 „ frisches Endosperm . . . . . = 23 „

Der Diastasegehalt ist also auch hier um die Hälfte des ursprünglichen Betrages gestiegen, so dass auch dieses Resultat die Anschauung, dass das Endosperm des Maises lebe, stützt.

Die Kleberschicht in ihrem Verhalten zu der Diastaseausscheidung und Diastaseleitung.

Tangl (I, 1885) hatte die Kleberschicht als das specifische Leitungsorgan für das Ferment angesprochen.

Haberlandt (I, 1890) fasst die Kleberschicht als ein Drüsengewebe auf, das zur Zeit der Keimung die Diastase bilde und ausscheide. Als Gründe für diese Annahme führt er erstens an, dass die Stärkekörner zwar in der Nähe des Schildchens am kräftigsten gelöst werden, dass aber zugleich in der Nähe der Kleberschicht die Lösung relativ ausgiebig sei; zweitens, dass Stückchen der Kleberschicht, die er Keimlingen der Roggenfrucht entnommen hatte, Stärke corrodirten, wenn er sie 24 Stunden damit in Berührung liess.

Der erste Grund ist ganz bedeutungslos, da ja bei fast allen Reservestoffbehältern die Lösung in der Peripherie sehr energisch ist, einfach deshalb, weil centraler liegende Gewebepartien durch die hindurchwandernden Lösungsproducte der Stärke an der Stärkelösung gehindert werden. Der zweite Grund ist ebenfalls

nicht stichhaltig, denn die verletzten Stückchen werden immer etwas Diastase abgeben können, da sie ja Diastase enthalten, die unverletzten brauchen es deshalb durchaus nicht zu thun. Ausserdem sind Bakterien nicht abgehalten worden.

Pfeffer (I, p. 424) liess Versuche anstellen, deren Resultate nicht für Haberlandt's unbewiesene Annahme sprechen. Von der Kleberschicht befreite Endosperme der Maisfrucht, denen Gypsschildchen angesetzt waren, lösten die Stärkekörner ebenfalls. Es spricht dies allerdings mit Sicherheit auch nicht gegen Haberlandt's Annahme, denn wenn einmal Diastase von der Kleberschicht aus eingewandert wäre, so könnte die erstere auch ohne die Kleberschicht weiter wirken.

Brown und Morris sind durch ihre Versuche zu der Ueberzeugung gekommen, dass Haberlandt mit seiner unbewiesenen Ansicht Unrecht habe. Sie fanden, dass chloroformirte Stückchen der Kleberschicht ebenso stark auf Stärkekörner wirkten als lebende; sie untersuchten allerdings diese Thatsache nicht quantitativ. Es wäre dies übrigens auch kein directer Beweis der Unrichtigkeit der unbewiesenen Annahme Haberlandt's.

In letzter Stunde hat Grüss noch eine „Vorläufige Mittheilung“ über einige mikrochemische Versuche gemacht (III). Er beruft sich (p. 5) auf seine schon citirte unvollständige Analyse von Schildchen, Aleuronschicht und Endosperm, die zeigt, dass die Aleuronschicht (d. h. die periphere Partie des Endosperms mit der Aleuronschicht, denn die Aleuronschicht allein kann man nicht abschaben) relativ reich an Diastase ist, ferner darauf, dass die abgelöste Aleuronschicht nach Haberlandt in Stärkekleister untersinke. Ferner verweist er auf die Versuche mit Guajakreaction, die zeigen, dass sich „in Endospermstücken, deren Schildchen entfernt sind, und welche etwa drei Tage in Wasser liegen, aus den Aleuronzellen eine Diastasefluth erhebt“, d. h. dass sich die peripheren Zellen des Endosperms intensiv blau färben, und meint, durch diese Thatsache sei die Haberlandt'sche Annahme „verificirt“. Diese Argumente sind weder neu (denn auch der Guajakversuch könnte im günstigsten Falle nur aussagen, dass in den peripheren Zellen des Endosperms relativ viel Diastase entsteht), noch beweisen sie irgend etwas für Haberlandt's Anschauung.

Herr Professor Meyer veranlasste mich, zur Orientirung über diese Angelegenheit folgende Fragen zu beantworten:

Frage VIII.

1. Welchen Gehalt an Diastase besitzen die nach zweitägigem Einquellen abgeschabte Kleberschicht, Fruchtschale und das Endosperm?
2. Wie verhält sich der Diastasegehalt solcher Endosperme, die fünf Tage auf Brunnenwasser lagen und mit Gypsschildchen versehen waren, wenn die Kleberschicht durch Abschaben vor dem Hinlegen sorgfältigst entfernt war, zu dem Diastasegehalt der zwei Tage gequollenen, kleberschichtfreien Endosperme?
3. Welchen Gehalt an Diastase besitzen die Schale und das kleberschichtfreie Endosperm von Endospermen, die 14 Tage eingegypst über Wasser gelegen hatten, nachdem vorher die Kleberschicht entfernt war?

Versuch 13.

Eine grössere Portion Mais wurde zunächst wieder zwei Tage quellen gelassen, darauf Fruchtschale, Kleberschicht und Schildchen sorgfältigst entfernt. Die Endosperme, Schalen und Kleberschicht wurden gewogen, chloroformirt, getrocknet und wieder gewogen. Darauf wurde der Diastasegehalt der einzelnen Theile genau bestimmt.

Das Frischgewicht von acht abgeschabten Endospermen betrug . . . . 3,45 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . . 0,47 „
Das Frischgewicht der Schalen und Kleberschicht dieser acht Endosperme betrug . . . . . . 2,68 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . . 0,34 „

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,2 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht, 24 Stunden digerirt, dann aufgekocht und auf 100 ccm aufgefüllt,

25 ccm davon = 33 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,2 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht, vor dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 17 mg Cu,
diese 17 mg Cu von obigen 33 mg abgezogen, demnach
25 ccm = 16 mg Cu = 1,3 Diastase,
folglich 0,2 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht = 5,2 Diastase.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g Kleberschicht und Schale, vor dem Digeriren aufgekocht und nachher auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 9 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g Kleberschicht und Schale, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 12 mg Cu,
obige 9 mg abgezogen = 9 „ „
25 ccm = 3 mg Cu,
folglich 0,05 g Kleberschicht und Schale = 1 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht . . . . . = 320 mg Cu = 26 Diastase,
1 „ frisches Endosperm ohne Kleberschicht . . . . = 248 „ „ = 19 „
1 „ trockene Kleberschicht und Schale . . . . = 240 „ „ = 20 „
1 „ frische Kleberschicht u. Schale = 173 „ „ = 14,4 „

Versuch 14 (nach 5tägigem Liegen).

Von acht Endospermen, die zwei Tage gequollen hatten, wurden Fruchtschale, Kleberschicht und Schildchen entfernt, dann die Endosperme eingegypst, auf 400 ccm Wasser aufgelegt, über das Gaze gespannt war, auf dem sie ruhten. Das Ganze wurde völlig steril gehalten, und die Endosperme wurden fünf Tage liegen gelassen.

Das Frischgewicht der acht abgeschabten Endosperme
betrug nach 5tägigem Liegen . . . . 3,55 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . . 2,75 „
Das Frischgewicht der Schalen und Kleberschicht dieser
acht Endosperme betrug . . . . . . 0,43 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . . 0,3 „

Der Diastasegehalt von Endospermen, Schalen und Kleberschicht wurde bestimmt:

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,2 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht, vor dem Digeriren aufgekocht, nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm = 15 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,2 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht, nach dem 24stündigen Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 29 mg Cu,
obige 15 mg abgezogen = 15 „ „
25 ccm = 14 mg Cu = 1,1 Diastase,
folglich 0,2 g getrocknetes Endosperm ohne Kleberschicht = 4,4 Diastase.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g Kleberschicht und Schale, vor dem Digeriren aufgekocht, nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm = 16 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,05 g Kleberschicht und Schale, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 22 mg Cu,
obige 16 mg abgezogen 16 „ „
25 ccm = 6 mg Cu.

Darnach lieferten:

1 g trocknes Endosperm ohne Kleberschicht = 22 Diastase,
1 „ frisches „ „ „ = 7,7 „
1 g trockne Kleberschicht und Schale . . . = 10 Diastase,
1 „ frische „ „ „ . . . = 6,9 „



Versuch 15 (nach 15 Tagen).

Der vorige Versuch wurde wiederholt, jedoch wurden die abgeschabten Endosperme mit Gypsfüsschen statt 5 nun 15 Tage stehen gelassen. Es wurde der Diastasegehalt der Endosperme, Kleberschichten und Schalen einzeln bestimmt.

Das Frischgewicht der neun abgeschabten Endosperme nach 14tägigem Liegen betrug . . . 3,83 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . 2,78 „
Das Frischgewicht der Schalen betrug . . . . . . 0,39 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . 0,21 „
Das Frischgewicht der Kleberschicht betrug . . . . 0,25 g,
das Trockengewicht derselben betrug . . . 0,198 „

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes abgeschabtes Endosperm, vor dem Digeriren aufgekocht und nach dem Digeriren auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm = 24 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknetes abgeschabtes Endosperm, nach dem Digeriren aufgekocht und dann auf 100 ccm aufgefüllt,
25 ccm davon = 58 mg Cu,
obige 24 mg abgezogen 24 „ „
25 ccm = 34 mg Cu = 2,9 Diastase.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknete Fruchtschale, vor dem Digeriren aufgekocht,
25 ccm = 13 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,1 g getrocknete Fruchtschale, nach dem Digeriren aufgekocht,
25 ccm davon = 18 mg Cu,
obige 13 mg abgezogen = 13 „ „
25 ccm = 5 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,08 g getrocknete Kleberschicht, vor dem Digeriren aufgekocht,
25 ccm = 22 mg Cu.

50 ccm Stärkelösung (2procentige) + 0,08 g getrocknete Kleberschicht, nach dem Digeriren aufgekocht,

25 ccm davon = 34 mg Cu,
obige 22 mg abgezogen 22 „ „
25 ccm = 12 mg Cu = 1 Diastase.

Darnach lieferten:

1 g	trocknes Endosperm ohne Kleberschicht .	= 116	Diastase,
1 „	frisches „ „ „ .	= 80	„
1 „	trockne Fruchtschale	= 20	„
1 „	frische „	= 10	„
1 „	trockne Kleberschicht	= 50	„
1 „	frische „	= 39	„
1 „	frisches Endosperm mit Schale und Kleberschicht	= 75	„
1 „	Fruchtschale + Kleberschicht	= 21	„

Aus den drei Versuchen geht erstens hervor, dass der Diastasegehalt von Endospermen, deren Kleberschicht entfernt ist, ebenso stark wächst, wie wenn die Kleberschicht vorhanden ist. Zweitens zeigen diese Versuche, dass die Kleberschicht von zwei Tagen gequollenen Samen nicht erheblich mehr Diastase als das Endosperm enthält.

Die Kleberschicht erzeugt darnach nicht die Diastase, welche im Endosperm bei der Keimung auftritt.

Im Versuche 14 zeigt sich der Diastasegehalt des geschälten Endosperms relativ niedrig; ungeschälte Endosperme ergaben nach fünf Tagen im Minimum zwölf Diastase für ein Gramm frische Substanz, die Endosperme des Versuches 14 dagegen nur 7,7 Diastase. Bedingt mag dies vielleicht durch die Verletzung der Endosperme sein; die durch den Eingriff bewirkte Schädigung wird wahrscheinlich nur langsam überwunden. Darnach ist auch verständlich, dass die vorher abgeschabte Kleberschicht, der ja immer noch zahlreiche Zellen der Peripherie des Endosperms beigemengt sind, etwas mehr Diastase (12 ungefähr) enthielt. —

Die Arbeit wurde im März 1895 abgeschlossen.



Literatur-Verzeichniss.

I Bloriszewski, Physiologische Untersuchungen über die Keimung und weitere Entwickelung einiger Samentheile bedecktsamiger Pflanzen. Thiel's landwirthschaftl. Jahrb., 1876, Bd. V, p. 145.

I Brown and Morris, Researches on the germination of some of the Gramineae, Part. I. Journal of the Chemic. Society, Juni 1890.

I A. Gris, Recherches anatomiques et physiologiques sur la germination. Annales des sciences naturelles Botanique, Série 5, Tome II, 1864, p. 5.

I Grüss, Ueber den Eintritt von Diastase in das Endosperm. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1893, p. 286.

II —, Ueber das Verhalten des diastatischen Enzyms in der Keimpflanze. Pringsheim's Jahrbücher, 1894, p. 379—437.

III —, Die Diastase im Pflanzenkörper. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1895, p. 2.

I Haberlandt, Die Kleberschicht des Gras-Endosperms als Diastase ausscheidendes Drüsengewebe. Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, 1890, p. 40.

I Barthold Hansteen, Ueber die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. Flora, Ergänzungsband z. Jahrg. 1894, Bd. 79, p. 419.

I Kjeldahl, Recherches sur les ferments producteurs de sucre. Résumé du compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, 1879.

I Krabbe, Untersuchungen über das Diastaseferment. Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. XXI, Heft 4, Separatabdruck.

I Krauch, Beiträge zur Kenntniss der ungeformten Fermente in den Pflanzen. 1878, Dissertation der Universität Erlangen.

I Lintner und Eckhardt, Studien über Diastase. Journal für prakt. Chemie, Bd. 41, 1890, p. 91.

I Arthur Meyer, Untersuchungen über die Stärkekörner. Gustav Fischer, Jena 1895.

I Pfeffer, Ueber die Ursachen der Entleerung der Reservestoffe aus Samen. Berichte der math.-phys. Klasse der Königl. Sächs. Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig, 1893, p. 421.

I Sachs, Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, II. Aufl., p. 341.

I Tangl, Studien über das Endosperm einiger Gramineen. Sitzungsber. der Wiener Akademie, 1885, Bd. 92.

I van Tieghem, Physiologie de la Germination. Annal. des Scienc. Nat. (5), 17, 205 (1873).

II — —, Sur la digestion de l'albumen. Compt. rend. 84, 578 (1877).



Druck von E. Buchbinder in Neu-Ruppin.

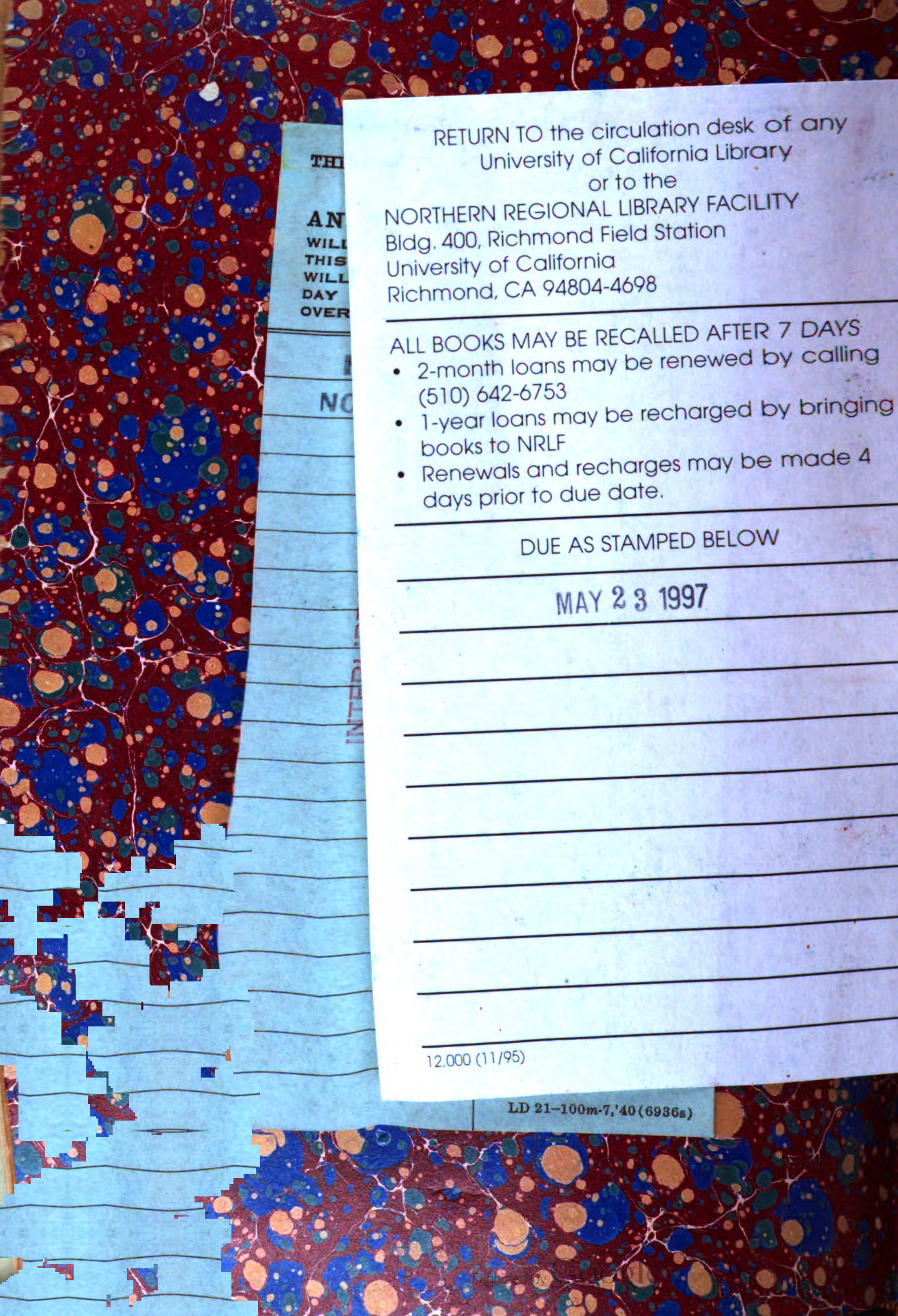
Lebenslauf.

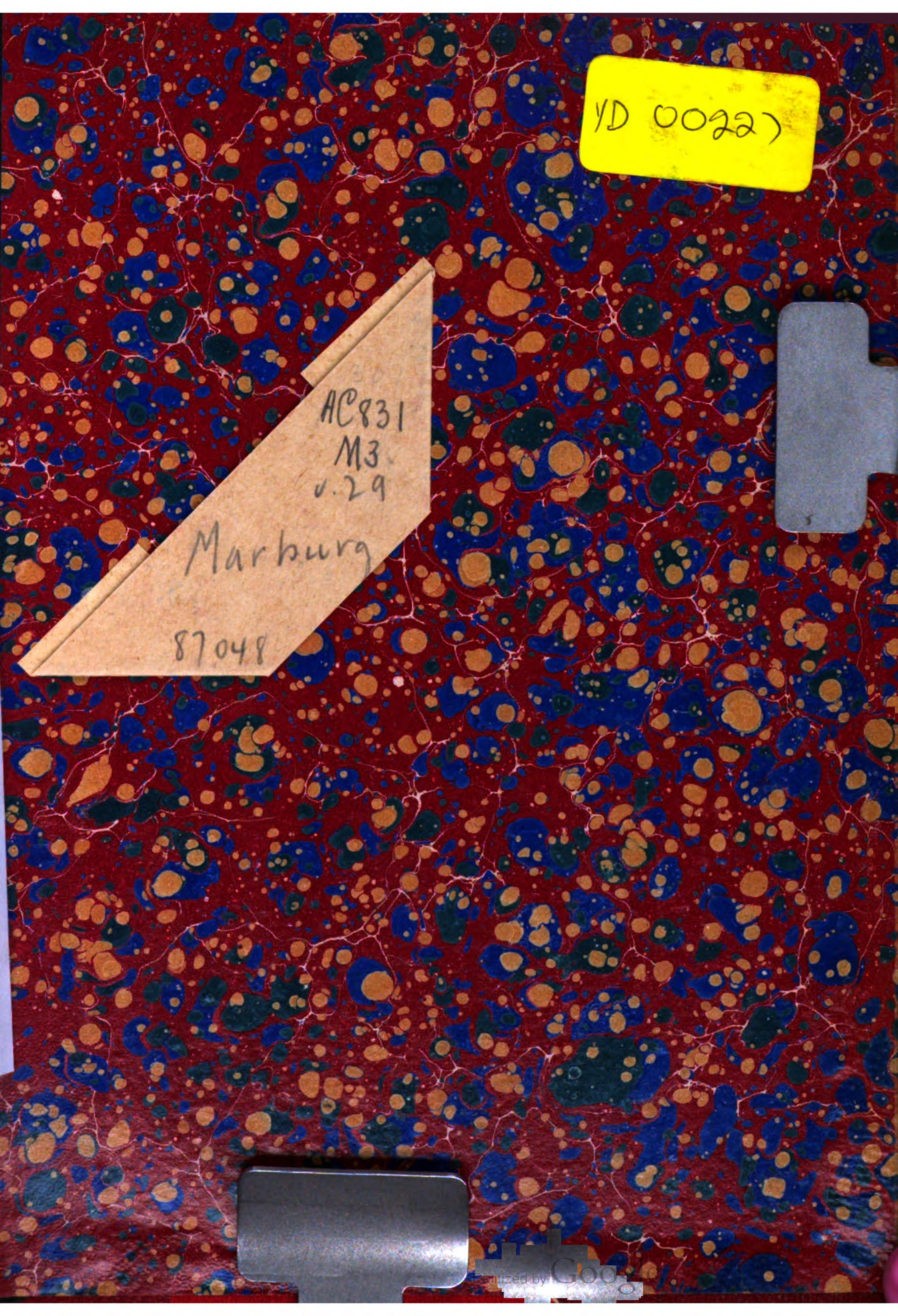
Ich, Ferdinand Linz, bin am 4. August 1864 zu Idstein im Taunus, als Sohn des Amtsgerichtsrath Linz, jetzt in Langenschwalbach, geboren und in der römisch-katholischen Religion erzogen worden. Durch Privatunterricht wurde ich zu dem Gymnasialstudium vorgebildet; besuchte von Herbst 1875 bis Herbst 1880 das Gymnasium zu Hadamar und von da ab bis Ostern 1883 das Gymnasium zu Fulda. Ich trat hierauf bei Herrn Apotheker Dr. Dronke, Berlin in die Lehre und bestand im Juni 1886 das Gehilfenexamen. Nach dreijähriger praktischer Thätigkeit als Apotheker-Gehilfe diente ich in Freiburg i./Brsg. ein Jahr mit der Waffe, hörte zugleich an der Universität und bestand im Mai 1891 daselbst das pharmazeutische Staatsexamen.

Von October 1892 bis 1. Mai 1894 war ich Assistent am botanischen und pharmakognostischen Institut der Universität Marburg. Von Mai 1894 bis jetzt widmete ich mich dem Studium der Naturwissenschaften.

Meine Universitätslehrer waren in Freiburg i./Brsg. die Herren Professoren: Baumann, Hildebrand, Klein, Schottelius, Warburg; in Marburg die Herren Professoren Cohen, Melde, Meyer, Zincke.

Allen diesen hochverehrten Lehrern, besonders aber Herrn Professor Dr. Arthur Meyer, unter dessen Leitung ich vorstehende Arbeit gemacht habe, bin ich zu hohem Dank verpflichtet. —


RETURN TO the circulation desk of any
University of California Library
or to the
NORTHERN REGIONAL LIBRARY FACILITY
Bldg. 400, Richmond Field Station
University of California
Richmond, CA 94804-4698
ALL BOOKS MAY BE RECALLED AFTER 7 DAYS
• 2-month loans may be renewed by calling (510) 642-6753
• 1-year loans may be recharged by bringing books to NRLF
• Renewals and recharges may be made 4 days prior to due date.
DUE AS STAMPED BELOW
MAY 23 1997
12,000 (11/95)
LD 21-100m-7,'40(6936s)


YD 00227
AC831
M3
v.29
Marburg
87048
Digitized by Google

